

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

ÚVOD

Ústa sú vstupnou bránou tela do vonkajšieho sveta a predstavujú jednu z biologicky najviac významných a zložitých miest tela. Je to miesto, kde prebieha prvá fáza tráviaceho procesu a v dôsledku toho je v ústach mnoho zmyslových orgánov (chuť, vôňa a teplota). To hrá dôležitú úlohu aj v komunikácii, či už rečou alebo prostredníctvom výrazu tváre, a významne prispieva k nášmu vzhľadu. Nedávno sa ukázalo, že orálne zdravie je neoddeliteľne spojené s celkovým zdravotným stavom a naopak (Kumar, 2013). Udržiavanie orálneho zdravia je veľmi dôležité pre sebaúctu osoby a verejného blaha. Ústa sú ľahko prístupnou časťou tela a preto môžu poskytnúť pracovníkom v zdravotníctve okno do orálneho a celkového zdravotného stavu človeka.

Ochorenie lokalizované na akomkoľvek mieste v tele môže byť manifestované v ústach a preto sliny môžu slúžiť ako dôležité diagnostické tekutiny (Schafer a spol., 2014). Napr. orálna kandidóza u predtým zdravých mladých dospelých môže byť prvým príznakom infekcie s HIV, zatiaľ čo možno v slinách detekovať protilátky proti celej rade vírusov. Rizikové faktory pre celkové zdravie, ako je návyk na fajčenie, zneužívanie alkoholu a nedostatočná strava, môžu mať tiež škodlivý vplyv na orálne zdravie, zatiaľ čo analogickým spôsobom, ústna ochorenia môžu mať vplyv na celkový zdravotný stav jedinca. Nedávne štúdie naznačujú, že závažné ochorenia parodontu u niektorých populácií môže byť rizikovým faktorom pre predčasne narodené deti alebo nízku pôrodnú hmotnosť detí, ischemickej choroby srdca, pľúcneho ochorenia a diabetes mellitus (Buset a spol., 2016).

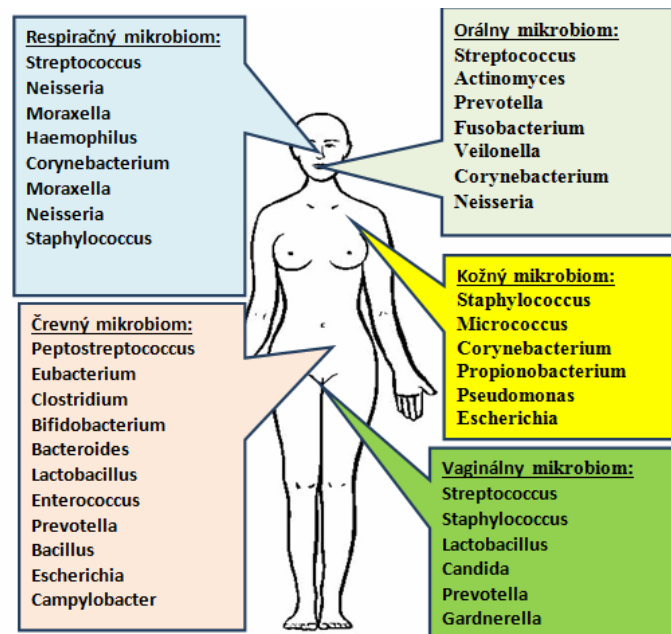
Ústa sú jedným z kľúčových rozhraní medzi telom a vonkajším prostredím, a môžu pôsobiť ako miesto vstupu pre niektoré mikrobiálne patogény, najmä zo vzduchu, alebo z požívatín. Preto sú vybavené komplexom radu obranných stratégií, ktoré obsahuje prvky vrodenej ako aj adaptívnej imunity. V skutočnosti, schopnosť hostiteľa rozpoznať a reagovať na inváziu patogénov a zároveň tolerovanie rozmanitej rezidentnej mikroflóry zostáva aj naďalej jednou z najpozoruhodnejších črt vývoja a presné mechanizmy, ktoré umožňujú túto úroveň diskriminácie stále nie sú ešte úplne pochopené (Khavkin a spol., 2015).

Odhaduje sa, že ľudské telo sa skladá z viac než 10^{14} buniek, z ktorých je len asi 10% buniek vlastného tela. Zvyšok sú mikroorganizmy, ktoré sú reprezentované rezidentnou mikroflórou hostiteľa. Rezidentná mikroflóra nemá len pasívny vzťah so svojim hostiteľom, ale prispieva priamo aj nepriamo k normálnemu rozvoju fyziológie, výživy a obranných systémov organizmu. Všeobecne platí, že tieto prírodné mikroorganizmy žijú v harmónii s človekom a zvieratami a samozrejme obe strany majú osov z tohto spolunažívania. Strata alebo perturbancia tejto rezidentnej mikroflóry môže viesť ku kolonizácii vonkajšími (a často patogénnymi) mikroorganizmami, čím sa stávajú predispozičnými miestami ochorení.

Mikrobiálna kolonizácia všetkých dostupných ekologických plôch tela (vonkajších aj vnútorných) začína ihneď po narodení. Tieto povrchy sú vystavené širokému spektru mikroorganizmov z prostredia ako aj od iných osôb. Každý povrch na základe svojich

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

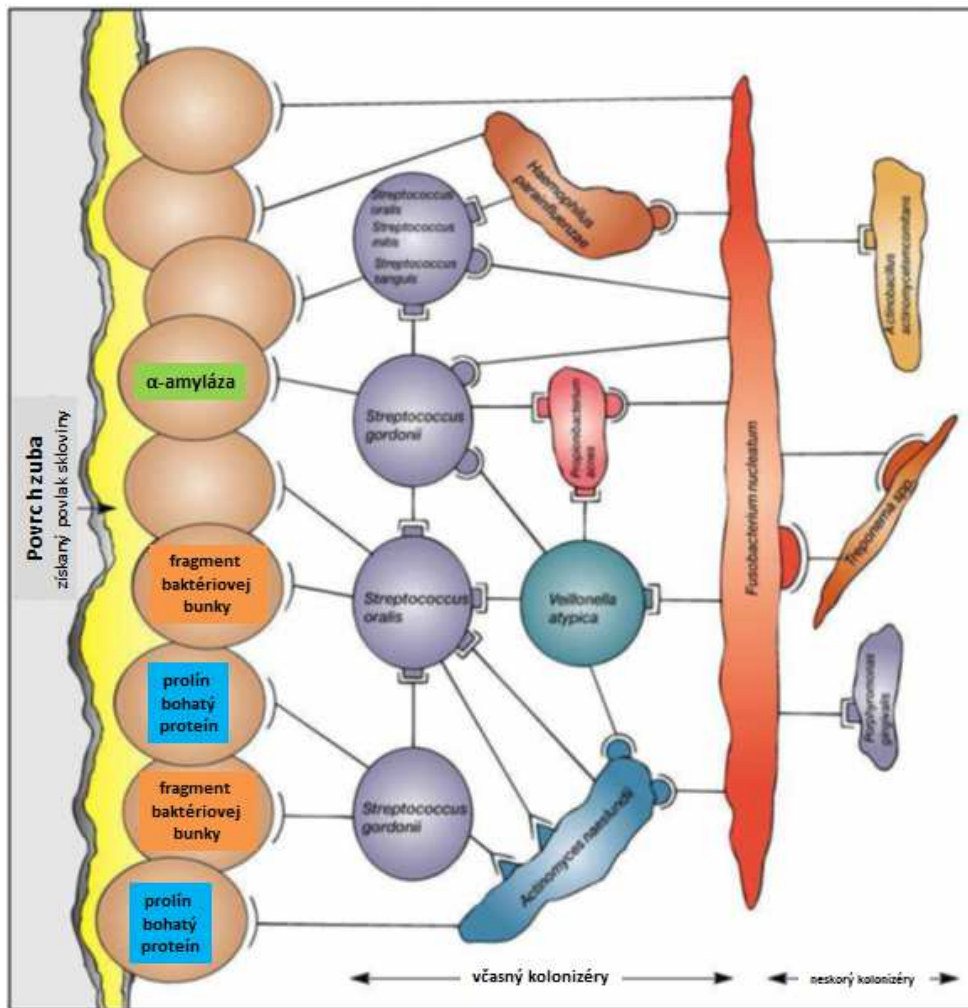
fyzikálnych a biologických vlastností je vhodný na kolonizáciu iba časťou týchto mikróbov. To má za následok získanie, výber a prirodzený vývoj rozmanitej, ale charakteristickej mikroflóry na odlišných miestach (obr. 1). Napr. stafylokoky a mikrokoky prevažujú na povrchu kože, ale zriedka sa usadzujú v ústach zdravého človeka. Podobne, menej ako 30 z viac ako 700 typov mikroorganizmov nájdených v ústach bolo schopných kolonizovať tráviaci trakt, aj napriek kontinuálny priechod týchto mikróbov cez črevá. Okrem toho, prevládajúci druh baktérií sa môže výrazne líšiť na odlišných plochách v ústach napriek tomu že majú rovnakú šancu kolonizovať jednotlivé miesta, čo môže byť ovplyvnené nepatrnými zmenami kľúčových parametrov a konkurencieschopnosťou jednotlivých mikroorganizmov.



Obr. 1 – Distribúcia rezidentnej mikroflóry. Predominantné mikroorganizmy v určitých anatomických lokalitách.

Ústna dutina, okrem vlastností typických pre telové dutiny, má mnoho takých diferenciačných znakov, ktoré ju stavajú do pozície samostatnej funkčnej a biologickej jednotky – charakteristického ekosystému. Na sklovinovom povrchu zubov (sklovina, na organickú kostru naviazaná vápenno-fosforečná kryštalická vrstva), ktorý predstavuje významnú časť plôch ústnej dutiny, odohrávajú sa prevažne fyzikálno-chemické procesy. Tieto zohrávajú významnú úlohu v regulácii rozpustnosti skloviny (demineralizácia) a jej výstavbe (remineralizácia). Ústna dutina, vyplývajúca z jej funkcie, je voči prostrediu určité časové obdobia otvorená, resp. uzatvorená (Marsh a Martin, 2012). Následkom toho v tenkom tekutinovom povlaku pokrývajúcom jej povrchy je parciálny tlak kyslíka raz nízky, inokedy sa rovná tlaku vo vdychovanom vzduchu. To je jedným z fenoménov, ktorý ovplyvňuje posuny medzi aeróbnou a anaeróbnou mikroflórou (napr. u ľudí, ktorí prevažne dýchajú ústami). Tu môžu byť aj lokálne veľmi významné rozdiely, napr. v tzv. retenčných miestach a v dentálnom plaku prevládajú anaeróbné pomery. Baktérie týchto lokalít majú významné postavenie vo vzniku zubného kazu (obr. 2).

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM



Obr. 2 – Mikroflóra dentálneho plaku

Okrem toho zloženie ústnej mikroflóry ovplyvňuje celý rad ďalších činiteľov, napr. zloženie a forma požívatín (potrava sa dostáva do ústnej dutiny nespracovaná), detergenty, inhibítory enzýmov a antibakteriové látky obsiahnuté v prípravkoch dentálnej hygiény.

Ústna dutina je jedinečná aj v tom, že (Marsh a spol., 2016):

- normálna sekrécia slín je 0,3-0,6 ml/min, ale po jedení je stimulovaná (6-8 ml/min) a najmä tieto majú významnú „vymývajúcu“ úlohu;
- vylúčené sliny zohrávajú významnú fyzikálnu úlohu v tvorbe sústa;
- sliny tým, že zabezpečujú vylúhovanie určitých látok do roztoku napomáhajú vnímaniu chuti a tvorbe iónov;
- ióny v slinách podporujú remineralizáciu tvrdých tkanív zubov;
- sliny majú významnú úlohu v „legendárnom“ účinku slín pri hojení rán, nakoľko sa v nej nachádzajúce látky imúnneho a neimúnneho charakteru majú antibakteriový účinok a predstavujú najdôležitejší obranný mechanizmus ústnej dutiny. Zároveň regulujú aj zloženie ústnej mikroflóry. Epitel ďasnovej brázdny už aj za fyziologických podmienok, ale

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

najmä pri zápale vo zvýšenej miere prepúšťa z krvi prostredníctvom slín do ústnej dutiny bielkoviny s vysokou molekulovou hmotnosťou a oroleukocyty (PMN – polymorfonukleárne leukocyty);

- sliny pri hladine bikarbonátu okolo 60 mmol/l, najmä pri ich zvýšenom vylučovaní môžu zohrávať významnú úlohu a v regulácii pH.

Komezálnne (endogénne) mikrobionta zohrávajú významnú úlohu v zdraví a chorobe ľudí, a to platí obzvlášť aj pre ústnu dutinu a jej mikroflóru (Marcotte a Lavoie, 1998). Prispievajú k rozvoju imunitného systému a ku kolonizácii nepôvodnými alebo patogénnymi mikroorganizmami. Slúžia aj ako rezervoár potencionálne patogénnych baktérií, ktoré za určitých podmienok môžu napadnúť tkanivá hostiteľa.

V ústnej dutine, komenzálne baktérie sú často spájané s etiológiou dvoch hlavných ochorení, ktoré sú vo vyspelých krajinách endemické, ale ich incidencia stúpa aj v rozvojových krajinách (Van Houte, 1994). Orálne choroby sa často objavujú po narušení rovnováhy medzi pôvodnou mikroflórou a pomnoženými potencionálne patogénnymi mikroorganizmami (Zaura a spol., 2014). Aby sme mohli správne pochopiť patogenézu zubného kazu a chorôb periodontu, je dôležité pochopiť ekológiu ústnej dutiny, poznať faktory zodpovedné za premenu komenzálnej mikroflóry na patogénnu, a rozumieť vzťahom medzi komenzálnou, patogénnou mikroflórou a hostiteľom. Faktory ovplyvňujúce tieto vzťahy môžu byť pôvodom od:

- hostiteľa,
- mikroorganizmov a
- vonkajšie činitele.

Osobitné postavenie má **sekretorický imunoglobulín A** (slgA) predominantný izotyp imunoglobulínu sekretovaného do slín. Je považovaný za prvú obrannú líniu hostiteľa proti patogénom, ktoré kolonizujú alebo invadujú povrchy omývané externými sekrétmi. Hlavnou úlohou slgA protilátok spočíva v limitácii mikrobiálnej adherencie a penetrácie cudzích antigénov do slizníc. Prírodne sa vyskytujúce slgA protilátky reagujú s početnými baktériami bežne prítomnými v slinách (**pôvodná mikroflóra**). Tieto mikroorganizmy ústnej dutiny sú často obalené slgA. Úloha týchto protilátok v kolonizácii a regulácii komenzálnych mikroorganizmov je predmetom diskusie (Solt a spol., 2011). Napriek prítomnosti slgA, **rezidentné baktérie** ďalej perzistujú v ústnej dutine. Komezálne mikroorganizmy môžu v ústnej dutine prežívať a sú málo citlivé k, alebo môžu unikať imunitným mechanizmom. Je možné aj to, že slgA účinkuje na pôvodne komenzálne baktérie len slabou, čím sa viac menej podieľa s rôznymi faktormi na udržaní homeostázy ekosystému ústnej dutiny.

Pri osídľovaní ústnej dutiny novorodencov sú prvé organizmy reprezentované streptokokmi (*S. mitis* biovar 1, *S. oralis* a *S. salivarius*). Tieto prispôsobujú toto nové prostredie pre ďalšie populácie mikroorganizmov. Časom diverzita osídľujúcich

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

mikroorganizmov rastie až dosiahne určitú vyváženú komunitu – ***klimaxová komunita***. Jej stabilita závisí na kompenzačných mechanizmoch zabezpečujúcich steady-state podmienky v ústnej dutine. Určité faktory, napr. vysoko cukornatá diéta, môže ireverzibilne narušiť homeostázu orálneho ekosystému, čo môže viesť k propagácii zubného kazu.

EKOLÓGIA ÚSTNEJ DUTINY

Ústna dutina je vlhké prostredie, ktoré je udržiavané pri relatívne konštantnej teplote (34 – 36 °C) a pH blízko neutrálnej vo väčšine oblastí, čo umožňuje dobré rastové podmienky pre mnohé mikroorganizmy. Ústa ale nie sú považované za uniformné prostredie. V ústnej dutine je mnoho lokalít, ktoré sú charakterizované rôznymi fyzikálno-chemickými faktormi, a preto umožňujú rast odlišnej mikrobiálnej komunity. To je spôsobené z časti veľkými anatomickými rozdielmi v ústnej dutine a vzťahmi medzi rôznymi anatomickými štruktúrami. V ústnej dutine sa nachádzajú tvrdé (zuby) aj mäkké (sliznica) tkanivá. Zuby môžu byť charakterizované ako neodlupujúce sa tvrdé povrchy, ktoré poskytujú mnohé rôzne miesta pre kolonizáciu baktérií pod (subgingiválne) a nad (supragingiválne) okraj ďasien. Oproti tomu, orálne sliznice sa vyznačujú neustálym odlupovaním povrchových epitelových buniek, čo vedie k značnému odstraňovaniu adherovaných baktérií. Sliznica ktorá pokrýva líce, jazyk, ďasná, podnebie a ústnu spodinu sa môže líšiť v závislosti na anatomickej lokalizácii. Epitel môže byť keratinizovaný (podnebie) alebo nekeratinizovaný (gingiválne brázdy). Jazyk, s papilárnym povrchom, predstavuje miesto kolonizácie, ktoré je chránené od mechanického odstraňovania. Oblasť spojov medzi epitelom ďasien a zubov, popisovaná ako gingiválne štrbiny, sú tiež predilekčným miestom pre kolonizáciu a zahrňujú tak mäkké ako i tvrdé tkanivá.

Povrch ústnej dutiny je kontinuálne omývaný dvoma dôležitými tekutinami – slinami a tekutinou gingiválnych štrbín. Tieto tekutiny sú esenciálne pre udržanie orálneho ekosystému tým, že zabezpečujú pre mikroorganizmy vodu, živiny, adhérenciu a antimikróbné faktory. Supragingiválna oblasť je omývaná slinami, zatiaľ čo subgingiválne prostredie (štrbiny) sú omývané najmä tekutinou gingiválnych štrbín (hlien).

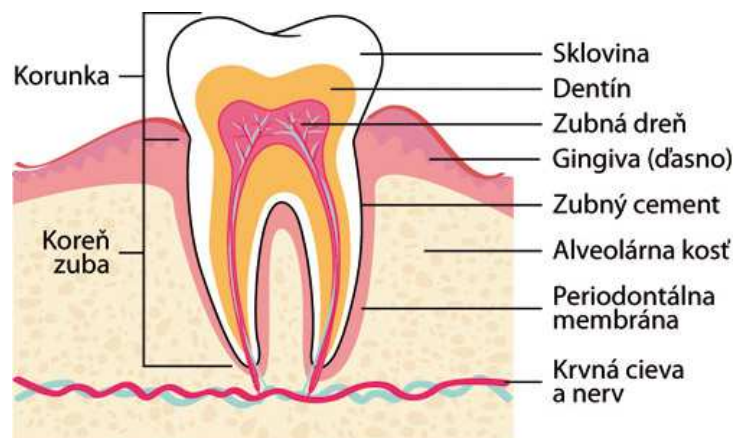
Sliny sú komplexnou zmesou vylučovanou do ústnej dutiny troma párami slinných žliaz (príušnou, podčelústnou a podjazykovou) a drobnými slinnými žľazami. Ich priemerná produkcia je okolo 1 litra denne (Marsh a Martin, 2012). Sliny obsahujú 99% vody, ale obsahujú aj glykoproteíny, proteíny, hormóny, vitamíny, močovinu a rôzne ióny. Koncentrácie týchto látok kolíšu v závislosti od vylučovania slín. Malé zvýšenie sekrécie vedie obyčajne v zvýšení sodíka, bikarbonátu a pH, a ku poklesu draslíka, vápnika, fosfátu, chloridov, močoviny a bielkovín. Pri zvýšenej sekrécii koncentrácie sodíka, vápnika, chloridov, bikarbonátu a bielkovín stúpajú, oproti tomu koncentrácia fosfátu klesá. Sliny napomáhajú udržaniu integrity zubov tak, že zabezpečujú pre ne primeranú koncentráciu vápnika, fosfátu, horčíka a fluóru potrebného pre remineralizáciu skloviny zubov.

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Gingiválna tekutina (GCF, hlien) je exsudát pochádzajúci z plazmy prostredníctvom ďasien (spojovací epitel) a omývajú zuby. Difúzia hlienu v zdravých ďasnách je nízka ale významne stúpa počas zápalu. Zloženie hlienu je podobné ako plazmy: obsahuje bielkoviny, albumín, leukocyty, imunoglobulíny a komplement. GCF poskytuje aj vynikajúci zdroj výživy pre baktérie obývajúce štrbinu ďasien (Wilson, 2005).

Ústna dutina človeka predstavuje osobitné stanovište (prostredie), vrátane zubov, jazyka, líc a podnebia, z ktorých každé podporuje svoju vlastnú jedinečnú mikrobiálnu komunitu. Zuby sú obzvlášť zaujímavé, pretože sú to len tvrdé, neobnovujúce sa plochy tela, ľahko prístupné pre mikrobiálnu kolonizáciu (Marsh a Martin, 2012). Zuby sa skladajú hlavne z kosti podobnej zuboviny (dentínu), v ktorej je dutina pulpy obsahujúca sieť krvných ciev, lymfatických ciev a nervov. Horný povrch dentínu je pokrytý vrstvou skloviny a v koreňovej oblasti zasa cementom. Každý zub vyčnieva do dutiny ústnej z alveolárnej kosti, ktorá je pokrytá ďasnami. Medzera medzi ďasnami a povrchom zubov sa nazýva štrbina (obr. 3) (Wilson, 2005).

V ústnej dutine je teplota obvyčajne okolo 35 až 36 °C a v bežná hodnota pH medzi 6,5 až 7,5; ktoré predstavujú vhodné podmienky pre rast mnohých mikroorganizmov. U väčšiny jedincov s paradentózou ale môžu subgingiválne teploty dosiahnuť až 39 °C. Za podmienok pri tvorbe zubného kazu pH môže klesnúť výrazne pod 6,5 vzhľadom na tvorbu kyselín baktériami, zatiaľ čo naopak pH štrbiny ďasien je často zvýšený do rozmedzia od 7,5 do 8 (Wilson, 2005).



Obr. 3 – Štruktúra zuba a prídavných štruktúr.

Vlastnosti v dutine ústnej, ktoré ich ekologicky odlišujú od všetkých ostatných povrchov tela, určujú druhy mikróbov schopných tu prežiť, takže nie všetky mikroorganizmy vstupujúce do úst sú schopné ich aj kolonizovať. Okrem toho v ústach existujú rôzne biotopy, ktoré podporujú rast charakteristickej mikrobiálnej komunity vzhľadom na ich konkrétne biologické funkcie. Jednotlivé stanovištia majú samozrejme rôzne ekologické podmienky vrátane **povrchu slizníc** (ako sú pery, líca, podnebia a jazyk) a **zubov** (tabuľka 1). Vlastnosti úst ako mikrobiálneho stanovištia sú dynamické, menia sa počas života

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

jedinca. Počas prvých mesiacov života ústa pozostávajú len z povrchu slizníc pre mikrobiálnu kolonizáciu. Erupcia zubov poskytuje jedinečný, pevný neodlupujúci sa povrch, ktorý umožňuje oveľa väčším masám mikroorganizmov (zubného povlaku) akumulovať vo forme biofilmu; okrem toho produkcia GCF môže poskytnúť ďalšie živiny pre subgingiválne mikroorganizmy. Ekológia úst sa v priebehu času mení v dôsledku erupcie alebo extrakcie zubov, ortodontických úkonov alebo vložení zubných protéz a akýmkoľvek ošetrením zubov vrátane výplní a náhrad. Prechodné fluktuácie v stabilite orálneho ekosystému môžu byť indukované frekvenciou a typom požívanej potravy, zmenami prietoku slín (napr. niektoré lieky môžu ovplyvniť tok slín) a antibiotickou liečbou. Štyri črty zabezpečujúce odlišnosť dutiny ústnej sú reprezentované: špecializovaným povrchom slizníc, zubami, slinami a GCF.

Slizničné povrchy. Ústa sú podobne ako u iné ekosystémy v zažívacom trakte s mikrobiálnou kolonizáciou slizníc. Mikrobiálne zaťaženie je pomerne nízke na povrchoch následkom deskvamácie. Avšak, ústna dutina má špecializované plochy, ktoré prispievajú k diverzite mikroflóry na niektorých miestach. Papilárne štruktúry chrbta jazyka poskytujú útočisko pre mnohé mikroorganizmy, ktoré by inak boli odstránené žuvaním a tokom slín. Takéto miesta na jazyku môžu mať nízky redox potenciál, ktorá umožnia rast obligátne anaeróbných baktérií. Jazyk môže pôsobiť ako rezervoár pre niektoré gramnegatívne anaeróby, ktoré sú zapletené v etiológii ochorení paradontu a sú zodpovedné za zápach z úst. Ústa obsahujú zrohovatený (ako na podnebí) rovnako ako nezrohovatený vrstvený dlaždicovitý epitel, ktorý môže ovplyvniť vnútro orálnu distribúciu niektorých mikroorganizmov.

Tab. 1 – Mikrobiálne stanovištia v dutine ústnej

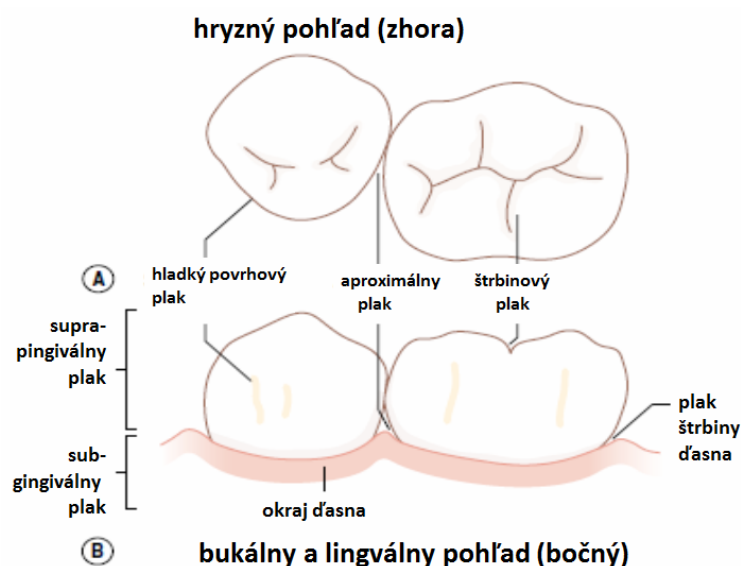
<i>Stanovište</i>	<i>Komentár</i>
Pery, líca, podnebie	Biomasa obmedzená deskvamáciou Niektoré povrchy majú špecializované bunky hostiteľa
Jazyk	Vysoko papilovaný povrch Pôsobí ako rezervoár obligátnych anaeróbov
Zuby	Neodlupujúci sa povrch umožňujúci akumuláciu veľkých mas mikrobov (biofilm zubného plaku) Zuby majú ohraničený povrch pre mikrobiálnu kolonizáciu (napr. fisúry, hladké plochy, aproximálne, gingiválne štrbiny) ohraničenou mikroflórou podľa ich biologických vlastností

Zuby. Ústa sú normálne prístupné miesto v tele, ktoré majú aj tvrdé neodlupujúce sa plochy na mikrobiálne osídlenie. Zuby sa objavujú v ústach až po niekoľkých prvých mesiacoch života. Primárny chrup je kompletný obyčajne vo veku 3 rokov, a okolo 6 rokov sa začínajú prerážať trvalé zuby; tento proces končí okolo 12 rokov. Miestne ekologické podmienky sa líšia a menia počas týchto období, čo vplýva na zloženie rezidentnej mikrobiálnej komunity v danom mieste. Zuby (a protézy) umožňujú akumuláciu veľkých hmôt mikroorganizmov (prevažne baktérií) a ich extracelulárne produkty označuje ako zubný plak. Plak je príkladom biofilmu, a zatiaľ čo sa vyskytuje prirodzene v zdraví, je tiež spojený so zubným kazom a paradentózou. V chorobe, dochádza k posunu v zložení mikroflóry plaku od druhov mikroflóry prevládajúcej v zdraví.

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Každý zub sa skladá zo štyroch tkanív – **pulpy, dentínu, cementu a skloviny** (obr. 3). Pulpa prijíma nervových vzruchov a krvné zásobenie z tkanív čeľuste prostredníctvom koreňov. Tak je schopná pulpa živiť dentín a pôsobiť ako zmyslový orgán tým, že registruje bolesti. Dentín tvorí prevažnú časť zuba a má za úlohu podporovať sklovinu a chrániť pulpu. Dentín sa skladá zo zväzkov kolagénnych vlákien obklopených minerálnymi kryštálmi. Tubuly prebiehajú telom dentínu z pulpy do spojov dentín-sklovina a dentín-cement. Sklovina je vysoko kalcifikované tkanivo tela a je obvyčajne len časť zuba vystavená prostrediu. Cement je špecializované kalcifikované spojivové tkanivo, ktoré kryje a chráni korene zuba. Cement je dôležitý pre ukotvenie zuba; v cemente sú zakotvené vlákna z periodontálnych väzov, ktoré kotvia každý zub k periodontálnej kosti čeľuste. V priebehu starnutia, môže ústup tkaniva ďasien vystaviť cement mikrobiálnej kolonizácii a chorobe (povrchový kaz koreňa).

Ekologická zložitosť úst sa ešte ďalej zvyšuje rozsahom stanovišť nájdených na zuboch. Zuby neposkytujú jednotné stanovište, ale majú niekoľko odlišných plôch (tabuľka 1, obr. 4), z ktorých každá je optimálna pre kolonizáciu a rast mikroorganizmov rôznych populácií. To je dané fyzikálnou povahou jednotlivých povrchov a výslednými biologickými vlastnosťami tejto oblasti. Stagnujúce oblasti medzi susednými zubami (aproximálne) a gingiválnymi štrbinami umožňujú ochranu kolonizujúcich mikroorganizmov pred nepriaznivými podmienkami v ústach. Obe miesta sú anaeróbne a okrem toho, oblasť gingiválnych štrbín je omývaná aj nutrične bohatou GCF, najmä počas zápalu, čo má za následok podporu veľmi pestrej mikrobiálnej komunity v týchto oblastiach. Hladké plochy sú viac vystavené prostrediu a môžu byť kolonizované len obmedzeným počtom druhov baktérií, ktoré sú prispôsobené takým extrémnym podmienkam. Vlastnosti hladkého povrchu sa budú líšiť podľa toho, či ich plocha sa dotýka tvárovej (lícny povrch) alebo vnútorným častiam (jazykový povrch) v ústach. Jamy a praskliny hryzných (oklúzne) plôch zubov poskytujú ochranu proti vyhošťovacím silám, ako tok slín a môžu obsahovať zvyšky potravy. Takéto chránené oblasti sú spojené s najväčšími mikrobiálnymi spoločenstvami, a samozrejme aj s väčšinou chorôb.



Obr. 4 – Znáznornenie rôznych povrchov zubov a terminológia miest zubného plaku.

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Vzťah medzi životným prostredím a mikrobiálnym spoločenstvom nie je jednosmerný. Prostredie ale rozhoduje o tom, ktoré mikroorganizmy môžu kolonizovať na danom mieste, metabolizmus mikrobiálnej komunity bude meniť fyzikálne a chemické vlastnosti ich okolia napr. tým, že spotrebováva kyslík a uvoľňuje oxid uhličitý a vodík a vytvára anaeróbne prostredie. Podmienky prostredia na zube sa líšia počas zdravia a choroby. Napr. postupom kazu lézia preniká do dentínu. Nutričné zdroje menia miestne podmienky a môže sa stať kyslejším a anaeróbnejším v dôsledku hromadenia produktov metabolizmu baktérií.

Podobne, počas patologického procesu gingiválna štrbina sa mení na periodontálne vďaka a produkcia GCF sa zvyšuje. Toto nové prostredie selektuje mikrobiálnu komunitu najviac adaptovanú na prevládajúce podmienky. Jedná sa o dynamický vzťah, každá zmena v danom prostredí vyvolá nové reakcie rezidentných mikroorganizmov, čo môže viesť k posunu v zložení a metabolizme mikroflóry.

FAKTORY VPLÝVAJÚCE NA ORÁLNY EKOSYSTÉM

Rast orálnych mikroorganizmov závisí od mnohých faktorov, napr. teploty, pH, oxidačno-redukčného potenciálu, dostupnosti živín a vody, morfológie orálnych štruktúr, toku slín a prítomnosti antimikrobiálnych látok. Každý z týchto faktorov vplýva selekčne na orálny ekosystém a pomáha udržať rovnováhu medzi populáciami mikroorganizmov. Výsledkom tohto selekčného tlaku sú odlišnosti v zložení orálnych mikroorganizmov v rôznych častiach ústnej dutiny. Po umytí zubov sa dentálny plak začína tvorbou bezbunkového proteínového filmu, nazývaného **získaná pelikula** (obr. 2). Hlavnou zložkou pelikuly sú zložky slín a tekutiny gingiválnych štrbín, napr. proteíny (albumín, lysozým, na prolín bohaté bielkoviny), glykoproteíny (laktoferín, IgA, IgG, amyláza), fosfoproteíny a lipidy. Sú prítomné aj bakteriálne komponenty typu glukozyltransferázy. Baktérie kolonizujú pelikulu za 2 až 4 hodiny po čistení zubov. Prvé kolonizujú najmä streptokoky (*S. sanguis*, *S. oralis* a *S. mitis*) potom v menšom počte druhov *Neisseria* a *Actinomyces*. Baktérie s nízkou adhezenčnou schopnosťou ku pelikule sú zmývané slinami. Po prvotnej kolonizácii, mikroorganizmy začnú intenzívny rast, tvoria mikrokolonie, ktoré sú adherované na extracelulárny matrix zložený z molekúl baktérií a hostiteľa. Počas tohto procesu alterácia prostredia vyvolá zmenu bakteriálnej flóry, najmä osídľovaním druhmi *Veillonella* a *Haemophilus* (asi 48 hodín po umytí zubov). Nové kolonizujúce baktérie vytvárajú kvalitatívne nové spoločenstvo založené na potravinových reťazcoch. Po 1 až 2 týždňoch začína osídľovanie obligátne anaeróbnymi baktériami druhov *Fusobacterium*, *Bacteroides* a spirochétami. K mikrobiálnej stabilizácii plaku dochádza po 2 až 3 týždňoch. Narušenie normálnej flóry plaku je silným predispozičným faktorom orálnych ochorení. K narušeniu ekosystému môžu viesť rôzne činitele:

- fyzikálno-chemické,
- faktory zo strany mikroorganizmov,

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

- externé a
- zo strany hostiteľa.

Fyzikálno-chemické faktory

Fyzikálno-chemické faktory sú výslednicou kombinovaného účinku hostiteľa, mikroorganizmov a externých činiteľov. Ide najmä o také faktory, ako sú: teplota, pH, dostupnosť vody, dostatok živín a redox potenciál. V prípade, že je ústna dutina nepretržite omývaná slinami a tekutinou gingiválnych štrbín, voda nie je limitujúcim faktorom.

Teplota. Teplota v ústnej dutine je relatívne konštantná (od 34 do 36 °C), čo umožňuje rast širokej palety mikroorganizmov. Teplota môže kolísať viac na mukozálnych a supragingiválnych povrchoch. Parodontálne vágky s aktívnym ochorením (zápal), majú vyššiu teplotu (až 39 °C) oproti zdravým miestam (Marsh a Martin, 2012). Aj relatívne malé zvýšenie teploty môže významne zmeniť expresiu génov baktérií, prípadne aj konkurencieschopnosť jednotlivých druhov. Zvýšenie teploty znižuje expresiu niektorých proteáz ako aj génov pre hlavné podjednotky proteínu fimbrií (tieto povrchové štruktúry sprostredkujú uchytenie baktérií na hostiteľské bunky) u periodontálneho patogéna, *Porphyromonas gingivalis*, a zvyšuje syntézu superoxid dismutázy, ktorý sa podieľa na neutralizáciu toxických metabolitov kyslíka (Azemat a spol., 2015). Počas príjmu potravy musia mikroorganizmy kolonizujúce tieto povrchy sa prispôbiť následkom príjmu studených alebo teplých pokrmov ešte k širšiemu rozpätiu teploty.

pH. Vplýva na mikroorganizmy priamo, alebo nepriamo rozpustnosťou molekúl pri určitom pH. Mikroorganizmy obyčajne nie sú schopné tolerovať veľké výkyvy pH. V ústnej dutine je pH blízko neutrálnej hodnoty (6,75 – 7,25), a je udržiavaná slinami. Sliny udržiavajú pH dvoma spôsobmi. Sliny odstraňujú uhľovodíky fermentované mikroorganizmami a odstraňujú kyslé metabolické produkty baktérií. Sliny môžu neutralizovať svojou pufrovaciu kapacitou aj kyslé alebo zásadité nápoje a potraviny. Bikarbonát predstavuje v slinách hlavný pufer, ale významnú úlohu majú aj peptidy, bielkoviny a fosfáty. Zvýšenie pH môže byť následkom sialín metabolizujúcich baktérií a tvorby amoniaku z močoviny. Zníženie pH môže byť následkom fermentácie uhľovodíkov, zníženeho zmyývajúceho účinku dentálneho plaku slinami. Po príjme cukrov môže pH klesnúť pod 5,0.

pH je dôležitý parameter ekológie orálnych mikroorganizmov. Subgingiválna oblasť je omývaná gingiválnou tekutinou (pH 7,5 – 7,9) a neuplatňuje sa tu plne pufrací účinok slín. pH gingiválnych štrbín je okolo 7,5 až 8,5. Pri alkalickom pH štrbín a peridontálnych váčkov sú vytvorené dobré podmienky pre kolonizáciu periodontopatogénnych druhov.

Kolísanie pH vedie k posunom v zastúpení baktérií v zubnom plaku. Po konzumácii cukru, pH plaku môže rýchlo klesnúť pod pH 5,0 následkom tvorby kyselín (kyselina mliečna), prevažne v dôsledku metabolizmu baktérií. Hodnota pH sa potom pomaly obnovuje na

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

pôvodné hodnoty. V závislosti od frekvencie príjmu cukru, budú baktérie v plaku vystavené nízkemu pH. Mnohé baktérie zastúpené v plaku za normálnych podmienok môžu tolerovať krátke zníženie pH, ale sú inhibované alebo usmrtené predĺženou expozíciou nízkym pH. Tieto podmienky sú pravdepodobnejšie u jedincov, ktorí bežne konzumujú občerstvenia obsahujúce cukor. To môže mať za následok zvýšenie rastu alebo kolonizáciu acidurickými druhmi, najmä so *Streptococcus mutans* a *Lactobacillus*, ktoré za normálnych okolností chýbajú alebo majú len nízke zastúpenie v zubnom plaku. Táto zmena bakteriálneho zloženia povlaku predurčuje povrch k zubnému kazu. Tolerovanie kyselín týmito baktériami je dosiahnuté ich metabolickou stratégiou a aktiváciou bielkovín stresovej reakcie.

Oproti tomu, môže pH štrbín ďasní stúpať počas hostiteľskej zápalovej odpovede pri ochoreniach parodontu, pravdepodobne v dôsledku bakteriálneho metabolizmu, napr. tvorba amoniaku z močoviny a z deaminácie aminokyselín. pH zdravej štrbiny ďasna má pH 6,9 a stúpa na pH 7,2 až 7,4 počas choroby, u niektorých pacientov s váčkami až po 7,8 (Marsh a Martin, 2012). Táto zmena pH môže meniť spôsob génovej expresie u subgingiválnych baktérií, a tým zvýšiť konkurencieschopnosť niektorých suspektných patogénov, napr. tým, že zvýhodňuje rastu patogénnych anaeróbov, ako je *P. gingivalis*, ktorý má optimum pH pre rast okolo pH 7,5.

Oxidačno-redukčný potenciál a anaerobióza. Celý rad enzýmových reakcií je oxidačno-redukčných počas ktorých sa jedna zlúčenina oxiduje a druhá redukuje. Pomer oxidovaných zložiek ku redukčným udáva redox potenciál (E_h). Redox potenciál je silne ovplyvňovaný prítomnosťou molekulárneho kyslíka, ktorý je hlavným akceptorom elektrónov. Anaeróbne baktérie vyžadujú redukujúce prostredie (negatívny E_h) pre svoj rast, zatiaľ čo aeróbne oxidačné prostredie (pozitívny E_h). Ústna dutina je charakterizovaná širokým rozsahom redox potenciálu, čo umožňuje rast aeróbnym, fakultatívne anaeróbnym aj anaeróbnym baktérií. Oblasť chrbta jazyka, líčna a sliznica podnebia predstavujú aeróbne prostredie, umožňujúce rast aeróbnym a fakultatívne anaeróbnym baktérií. Gingiválne štrbiny a aproximálne povrchy zubov (povrch medzi zubami) majú nižší redox potenciál umožňujúci rast obligátne anaeróbnym baktérií. Hodnoty E_h v slinách sú okolo +158 až +542 mV, zatiaľ čo v gingiválnych štrbinách môžu dosahovať okolo -300 mV.

Napriek dostupnosti úst pre vzduch s koncentráciou kyslíka približne 21%, ústna mikroflóra obsahuje málo, ak vôbec, naozaj aeróbnym druhov. Väčšina organizmov sú buď fakultatívne anaeróbne alebo obligátne anaeróbne. Okrem toho, v ústnej dutine sú niektoré kapnofilné (CO_2 -vyžadujúce) a mikroaerofilné druhy. Anaerobióza je často popisovaná ako rigidný termín, a orálne mikroorganizmy sú rozdelené na aeróbne a anaeróbne baktérií podľa ich schopnosti rásť v prítomnosti alebo v neprítomnosti kyslíka. Je široké spektrum odchýlok a nie sú ostré hranice medzi týmito skupinami mikroorganizmov.

Koncentrácia kyslíka je hlavným faktorom, ktorý obmedzuje rast obligátne anaeróbnym baktérií. Jedná sa o najbežnejší a najľahšie sa redukujúci akceptor elektrónov vo väčšine mikrobiálnych stanovišť, a majúci vplyv na oxidáciu životného prostredia.

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Anaeróbne druhy vyžadujú redukované podmienky pre svoj normálny metabolizmus, preto miera oxidačno-redukčného stavu v danom mieste riadi prežívanie a relatívny rast týchto organizmov. Táto redoxná úroveň sa zvyčajne vyjadruje ako oxidačno-redukčný potenciál (E_h). Kyslík je len jedným z mnohých zložiek ovplyvňujúcich E_h stanovišťa a jeho inhibičné pôsobenie je zvyčajne pripisované jeho schopnosti určovať redox potenciál.

Aj v prípade, ak je kyslík úplne vylúčený z prostredia niektoré anaeróbne baktérie nerastú v prípade, že redoxný potenciál je príliš vysoký. Podobne, niektoré kmene môžu tolerovať zvýšené koncentrácie kyslíka v prípade, že E_h sa udržiava na nízkej úrovni. Všeobecne platí, že distribúcia anaeróbných baktérií v ústach je vo vzťahu k oxidačno-redukčnému potenciálu na konkrétnom mieste, aj keď niektoré prežívajú na aeróbných stanovištiach následkom spolupráce s kyslík odoberajúcimi druhmi. Obligátne anaeróbne baktérie disponujú so špecifickými molekulárne obrannými mechanizmami, ktoré im umožnia vyrovnáť sa s nízkou úrovňou kyslíka.

Bola zistená úroveň anaerobiózy v rôznych oblastiach úst. Tenzie kyslíka predného povrchu jazyka boli 16,4%, zadného povrchu 12,4%, v bukálnych záhyboch na hornej a dolnej čeľusti iba 0,3 až 0,4% (Faran a Tanwir, 2012). Mikroelektrody umožnili meranie redox potenciálov na špecifických miestach v ústnej dutine. Bolo preukázané, že redoxný potenciál sa znižuje počas vývoja plaku na zubnej sklovine od počiatočného na čistom povrchu skloviny z E_h viac ako 200 mV (vysoko oxidovaný) až po -141 mV (silne redukovaný) po 7 dňoch (Faran a Tanwir, 2012). Vývoj plaku týmto spôsobom je spojený s konkrétnym sledom kolonizujúcich mikroorganizmov. Skorí kolonizátori budú využívať O_2 a tvoriť CO_2 ; neskorší kolonizátori môžu produkovať H_2 a ďalšie redukčné činidlá, ako zlúčeniny obsahujúce síru a prchavé produkty fermentácie. Preto, E_h je postupne znižovaný, určité miesta sa stávajú vhodné pre prežitie a rast meniaceho sa zloženia organizmov, najmä obligátnych anaeróbov.

E_h v štrbinách ďasien je zvyčajne okolo 70 mV, ale klesá počas zápalu až na okolo -50 mV, zatiaľ čo ešte nižšie hodnoty dosahuje pri pokročilom ochorení parodontu (cca -300 mV). To sa dá predpokladať, lebo vysoko anaeróbne organizmy, ako sú orálne spirochéty, sú izolované z miest s pokročilým ochorením. V aproximálnych oblastiach (medzi zubami), je tiež nízky E_h , pretože je tu mnoho obligátnych anaeróbných mikroorganizmov.

Budú prítomné gradienty koncentrácie O_2 a E_h v ústnej dutine, a to najmä v hustých biofilmov, preto zubný plak bude vhodný pre rast baktérií s určitým rozsahom tolerancie kyslíka. Redoxný potenciál v rôznych hĺbkach bude ovplyvnený metabolizmom prítomných mikroorganizmov a schopnosťou plynov difundovať do a von z plakov. Metabolizmus alebo vlastnosti jednotlivých baktérií bude ovplyvnená E_h životného prostredia. Napríklad aktivita intracelulárnych glykolytických enzýmov, a zloženie produktov kvasenia *Streptococcus mutans* kolíše za prísne anaeróbných podmienok. Z tohto dôvodu, perturbácia redox potenciálu by mohla mať významný vplyv na zloženie a metabolizmus mikrobiálnej komunity v danom mieste. Tento prístup sa aktívne sleduje ako základná stratégia pre riadenie

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

subgingiválneho plaku pri periodontálnom ochorení, napr. použitím redox činidiel na zvýšenie E_h a na vytvorenie podmienok nepriaznivých pre striktne anaeróbne baktérie.

Faktory zo strany mikroorganizmov

Adherencia je jedným z dôležitých schopností mikroorganizmov ukotviť sa na zuboch a slizničných povrchoch ústnej dutiny. Zabraňuje zmytiu mikroorganizmov slinami. Adherencia je sprostredkovaná adhezínmi na povrchu baktérií a receptormi na orálnych povrchoch. Mikrobiálne adhezíny sú reprezentované polysacharidmi, kyselinou lipoteichovou, glukozyl-transferázami a lektínmi. Tieto adhezíny sú súčasťou bunkovej steny, fimbrií, fibríl alebo kapsúl. Receptory môžu byť zložkami slín (mucíny, glykoproteíny, amyláza, lyzozým, IgA, IgG, na prolín bohaté proteíny a statheríny) alebo baktérií (glukozyltransferázy a glukány, viažu sa na adhezíny slizníc a zubov). Adherencia je výsledkom nešpecifických fyzikálno-chemických interakcií medzi baktériami a ústnymi povrchmi. Baktérie môžu kolonizovať orálne povrchy aj tak, že sa naagregujú na už adherované baktérie.

Bakteriálne interakcie sú mimoriadne dôležité tak z hľadiska udržania orálneho zdravia ako aj pre zvrhnutie ústnej mikroflóry. Typické sú najmä vzťahy metabolické a koagregačné. Oproti tomu kompetícia a antagonizmus sú dôležité pre udržanie homeostázy ekosystému úst.

Externé činitele

Jedným z najdôležitejších činiteľov je možné považovať **diétu**. Vplyv stravovacích návykov, zloženia diéty na orálne zdravie je všeobecne známy a bude predmetom osobitnej kapitoly.

Živiny. Populácie v rámci mikrobiálnej komunity sú závislé iba na stanovišti ohľadom živín potrebných pre ich rast. Z tohto dôvodu, združenie organizmov s konkrétnym stanovišťom je priamym dôkazom, že všetky potrebné živiny pre ich rast sú prítomné.

Endogénne živiny. Perzistencia a diverzita rezidentnej ústnej mikroflóry je skôr dôsledkom metabolizmu endogénnych živín poskytovaných hostiteľom ako exogénnych faktorov v strave. Hlavným zdrojom endogénnych živín sú sliny, ktoré obsahujú aminokyseliny, peptidy, proteíny a glykoproteíny (ktoré pôsobia aj ako zdroj cukrov a aminocukrov), vitamíny a plyny. Okrem toho, gingiválna štrbina dodáva GCF, ktorý navyše dodáva zložky hostiteľskej obrany, obsahuje napr. albumín a iné hostiteľské proteíny a glykoproteínov, vrátane hem obsahujúcich molekúl. Rozdiel v zdrojoch endogénnych živín je jedným z dôvodov, prečo je mikroflóra iná v gingiválnych štrbinách v porovnaní s inými orálnymi miestami. Dôkaz pre dôležitosť endogénnych živín pochádza aj zo zistenia, že relatívne rôznorodá mikrobiálna komunita sa nachádza v ústach u ľudí a zvierat kŕmených intubáciou (sondou). Podiel *S. mitis* skupiny baktérií sa zvyšuje v slinách detí so šetrnou

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

diétou pred transplantáciou kostnej drene. Tieto streptokoky uspokojujú svoje nutričné a energetické požiadavky predovšetkým z metabolizmu hostiteľských glykoproteínov.

Orálne baktérie produkujú glykosidázy, ktoré môžu uvoľňovať sacharidy z oligosacharidov postranných reťazcov slinného mucínu. Podobne, organizmy izolované zo štrbín ďasna a periodontálnych váčkov môžu degradovať hostiteľské proteíny a glykoproteíny, vrátane albumínu, transferínu, hemoglobínu a imunoglobulínov. Orálne mikroorganizmy obyčajne synergicky interagujú pri rozklade týchto endogénnych živín a len málo druhov má plnú enzýmovú výbavu pre úplný katabolizmus týchto živín. Jednotlivé organizmy majú rôzne, ale prekrývajúce sa enzýmové aktivity, tak aby spoluprácou s inými druhmi vedeli úplne rozložiť tieto substráty (Marsh a Martin, 2012).

Exogénne (dietetické) živiny. Vystavenie týmito endogénnymi živinami je celým radom potravín periodicky prijímanými v potrave. Kvasiteľné sacharidy sú iba jednou triedou zlúčenín, ktoré výrazne ovplyvňujú ekológiu úst. Sacharidy môžu byť odbúrané na kyseliny, zatiaľ čo sacharóza môže byť konvertovaná bakteriálnymi enzýmami (glukozyltransferázy, GTF; a fruktozyltransferázy, FTF) do dvoch hlavných tried exopolymérov (glukány a fruktány), ktoré môžu byť využité na príľnavosť alebo pôsobia ako extracelulárne zásobné látky.

Častá konzumácia sacharidov v potrave je spojená s posunom v zložení mikroflóry zubného plaku. Hladiny kyseliny-tolerantných druhov, najmä *S. mutans* a laktobacilov stúpajú, zatiaľ čo acidosenzitivné druhy sa znižujú (napr., niektoré kmene *Streptococcus sanguinis* a *S. gordonii*). Metabolizmus plaku sa mení tak, že prevládajúcim produktom fermentácie sa stáva laktát. Táto zmena mikroflóry a jej metabolizmu môžu predisponovať k zubnému kazu. Laboratórne štúdie naznačujú, že je opakované zníženie pH je skôr následkom metabolizmu cukrov ako prebytku sacharidov, ktoré sú zodpovedné za tieto odchýlky mikroflóry (Marsh a Martin, 2012).

Mliečne výrobky (mlieko, sýry), majú určitý vplyv na ekológiu úst. Požitie mlieka alebo mliečnych výrobkov môže chrániť zuby pred zubným kazom. To môže byť spôsobené tlmivou kapacitou mliečnych bielkovín, alebo dekarboxyláciou aminokyselín po proteolýze, pretože niektoré druhy baktérií môžu metabolizovať kazeín. Mliečne bielkoviny a kazeínové deriváty môžu sa adsorbovať na povrch zuba, výmenou za albumínu v pelikulách sklovín, a znižujú adhéziu *S. mutans*, môžu sekvestrovať fosforečnan vápenatý a zvýšiť remineralizáciu. Kappa-kazeín môže inhibovať adsorpciu GTF (glukozyltransferázy) do pelikuly a znížiť aktivitu enzýmu, a tým potláča tvorbu glukánu. Mlieko môže tiež zmeniť štruktúru skloviny *in vivo*, produkujúc ohraničenú globulárnu štruktúru. Syr zvyšuje prietok slín a zvyšuje pH plaku po sacharóze.

Dusičnany v zelenine môžu tiež ovplyvniť ústnu mikroflóru. Dusičnany pochádzajúce zo stravy sa zahustia v slinných žľazách, tým ich koncentrácia v slinách je vyššia ako v plazme. Tieto dusičnany môžu byť rýchlo konvertované na dusitany bakteriálnymi reduktázami dusičnanov. Pri nízkej hodnote pH, okyslené dusitany môžu inhibovať rast baktérií

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

podieľajúcich sa v kaze a na ochoreniach parodontu, prípadne sa môžu ďalej konvertovať na oxid dusnatý (Marsh a Martin, 2012).

Dôležitým faktorom je aj **orálna hygiena** a **antimikrobiálne látky**. Mechanické odstraňovanie plaku (umývanie zubov kefkou, čistenie nitkou, vyplachovanie) plne postačuje na prevenciu vzniku zubného kazu a chorôb periodontu. Používanie antimikrobiálnych látok tento proces vylepšuje. Fluoridy v prípravkoch ústnej hygieny pôsobia tak že podporujú tvorbu fluoroapatitu a kalcium fluoridu, čo má za následok zvýšenú odolnosť skloviny k demineralizácii. Zároveň potláčajú rast najmä gram pozitívnych druhov baktérií. V praxi sa používa celý rad podobne pôsobiacich látok ako chlórhexidín, kvartérne amónne bázy, rastlinné extrakty, ióny kovov a fenolové zlúčeniny.

Významný vplyv na orálne zdravie môžu mať určité **choroby** a **lieky**. Niektoré budú uvedené v príslušných kapitolách, napr. xerostómia, užívanie antibiotík, fajčenie a pod.

Faktory zo strany hostiteľa

K faktorom zo strany hostiteľa je možné počítať: obranné mechanizmy hostiteľa, vek, hormonálne vplyvy, stres a genetické faktory.

Od okamihu svojho narodenia ľudské telo hostí obrovské a zložité spoločenstvo mikroorganizmov. Epitelové plochy vystavené vonkajšiemu prostrediu sú rýchlo masívne kolonizované prokaryotickými bunkami, ktoré potom nakoniec výrazne prevažujú svojim počtom nad počtom vlastných eukaryotických buniek hostiteľského organizmu (Backhed a spol., 2005). Tradične boli títo mikroskopický spoločníci spájaný najmä s nástupom ochorenia a rozkladu. Avšak, v posledných rokoch sa dostali do popredia vedeckého ale aj verejného záujmu komplexné a často vzájomne prospešné vzťahy medzi človekom a jeho mikrobiómom.

Pokiaľ o baktériách je známe, že obývajú zemský povrch viac ako 2,5 miliárd rokov a prvé prokaryotické živočíchy sa objavili o viac ako miliardu rokov predtým; fosílné dôkazy ukazujú, že eukaryotické bunky vznikli asi pred 760 miliónmi rokov. V dôsledku toho, moderný človek a jeho evolučný predchodcovia zažili intímny vzťah s mikroorganizmami, ktoré ich formovali v koevolúcii po mnoho miliónov rokov. Endosymbiotická teória tvrdí že toto spojenie začalo invázia jednoduchých pre-eukaryotických buniek prokaryotickými symbiontami, čo viedlo k vzniku súčasných organel ako sú mitochondrie a plastidy (Dyall a spol., 2004). Genómové a proteomické analýzy podporujú túto víziu symbiotického vzťahu, ktorý zásadným spôsobom ovplyvnil metabolické a homeostatické mechanizmy u včasných eukaryót (Dyall a spol., 2004). Definovanie, do akej miery prispeli ako aj nespočet ďalších následných interakcií, a ako otesávali ľudský genóm bol brzdený ohromujúcou zložitou biológiou cicavcov a mikrobiálnej ekológie. Avšak, v dôsledku nedávnych pokrokov v oblasti biotechnológie a bioinformatiky, výskum v tejto oblasti prekvitá. Rozsah štúdia je veľký a

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

rôznorodý; ako je objasnenie vplyvu nielen mikróbov na evolúciu eukaryótov, ale aj základnú fyziológiu človeka ako ju poznáme dnes.

Obranné mechanizmy hostiteľa. Supraringiválne prostredie ústnej dutiny je primárne kontrolované slinami. Kontinuálne vylučovanie slín zvýšenou svalovou aktivitou perí a pohybom jazyka odstraňujú baktérie z povrchu zubov a slizníc. Sliny obsahujú aj mnohé nešpecifické a špecifické obranné faktory. SIgA je základným špecifickým obranným faktorom slín. K nešpecifickým obranným faktorom patria mucíny, neimúnne glykoproteíny v slín, laktoferín, lyzozým, peroxidáza, histatíny a cystatíny.

O komenzálnych ústnych baktériách sa predpokladá, že hrajú dôležitú úlohu pri produkcii obranných stratégií parodontálnych tkanív (Dixon a spol., 2004). Skutočne bolo preukázané, že vrodené imunitné reakcie na tieto orálne mikroorganizmy sú nevyhnutné pre zdravie parodontu (Darveau, 2010). Napríklad, tranzit neutrofilov do štrbiny ďasien je zvyčajne uľahčený koordinovanou expresiou E-selektínu, intercelulárnej adhezívnej molekuly a interleukínu-8 (IL-8), kde vytvárajú ochrannú vrstvu cez hostiteľské tkanivo. Bolo popísané, že parodontálne tkanivá exprimujú ľudských β -defenzínov 1, 2 a 3, membránovo viazanej a rozpustnej CD14 a lipopolysacharid-viažúceho proteínu u človeka. Tieto molekuly sú dôležité pri klírense mnohých ústnych baktérií (Darveau, 2010).

Zložky adaptívneho imunitného systému sa nachádzajú aj v ústnej dutine a zahŕňajú intraepiteliálne lymfocyty a Langerhansove bunky (Wilson, 2005). Lymfocyty, monocyty a polymorfonukleárne leukocyty sú vylučované prostredníctvom GCF a preto sa nachádzajú vo vyšších hladinách v gingiválnej štrbine oproti slinám (tabuľka 2). Sekrečná IgA je prominentný imunoglobulín nachádzaný v ústnej dutine a je zapojený do prevencie vzájomnej väzby mikróbov a ich väzbe k orálnym povrchom. IgG, ktorý je nachádzaný najmä v GCF a tým v gingiválnej štrbine má dôležitú úlohu v opsonizácii, aktivácii komplementu a neutralizácii bakteriálnych toxínov (Wilson, 2005). Okrem týchto imunitných zložiek v slinách človeka sú prítomné aj početné ďalšie antimikrobiálne zlúčeniny, vrátane lyzozýmu, laktoperoxidázy, laktoferínu a transferínu, ktoré sa podieľajú na zabíjaní a odstránení mikroorganizmov (Wilson, 2005).

Imunitný systém hostiteľa neustále čelí výzve rozlišovať medzi komenzálnymi a patogénnymi baktériami. Významná a impozantná prítomnosť vrodeného a adaptívneho imunitného systému v dutine ústnej vyvoláva otázku, ako je toto prostredie schopné podporovať tak veľkú mikrobiálnu komunitu. Bakteriálne bunky sú schopné exprimovať molekuly asociované s membránou, ktoré ich identifikujú ako terče pre vrodený imunitný systém, a nazývajú sa ako s patogénom spojené molekulárne vzory (PAMPs). Aj keď tieto PAMPs sú špecifické pre skupiny druhov alebo na úrovni rodu a niektoré nedávne teórie naznačili, že musí existovať druhý krok signalizácie na rozlišovanie medzi druhmi v rámci skupiny ohľadom identifikácie patogénu. Tieto baktérie neexprimujú relevantné PAMPs a sú tolerované imunitným systémom hostiteľa, zatiaľ čo stále stimulujúce tieto PAMPs do určitej

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

miery umožňujú existenciu komenzálnej mikroflóry. V dôsledku toho, okrem toho, že sú tolerované imunitným systémom hostiteľa môže komenzálna mikroflóra prispievať aj k rozvoju imunitného systému. Štúdie na germ-free myšiach ukázali, že komenzálne črevné baktérie zohrávajú dôležitú úlohu pri nastolení adaptívnej aj vrodenej imunity a prispievajú k vývinu tkaniva (Cebra, 1999). Ajkeď tkanivo parodontu nebolo týmto spôsobom úplne preskúmané predpokladá sa, že komenzálne populácie ústnej dutiny a hostiteľské tkanivá interagujú podobným spôsobom (Darveau, 2010).

Tab. 2 – Nešpecifické a špecifické obranné faktory v dutine ústnej

<i>Faktor obrany</i>	<i>Hlavná funkcia</i>
NEŠPECIFICKÉ	
Tok slín	Fyzikálne odstraňovanie mikroorganizmov
Mucín/aglutiníny	Fyzikálne odstraňovanie mikroorganizmov
Lysozým – proteáza – anión	Lýza buniek
Laktoferín	Sekvestrácia železa
Apo-laktoferín	Zabíjanie buniek
Laktoperoxidázový systém	Tvorba hypotiokyanátu (neutrálne pH)
	Tvorba kyseliny kyanodíkovej (nízke pH)
Histatíny	Antifungálna a mierna antibakteriálna aktivita
α- a β-defenzíny	Antimikrobiálna a imunomodulačná aktivita
Cystatíny SLPI a TIMP	Inhibitory cystein-, serín- a metalo-proteáz
Chitináza a chromogranín	Antifungálne
Katelicidín	Antibakteriálny
Kalprotektín	Antibakteriálny
ŠPECIFICKÉ	
Intraepiteliálne lymfocyty a Langerhansove bunky	Bunkové bariéry pre penetrujúce baktérie a antigény
sIgA	Zabraňujú adhéziu a tlmia metabolizmus mikróbov
IgG, IgA, IgM	Zabraňujú mikrobiálnej adhézii, opsonizujú, aktivátory komplementu
Komplement	Aktivuje neutrofile
Neutrofile/makrofágy	fagocytóza

Obrana zo strany hostiteľa. Zdravotný stav úst je závislý na integrite sliznice (a sklovine), ktorá pôsobí ako fyzikálna bariéra, pre zabránenie prenikaniu mikroorganizmov alebo antigénov. Hostiteľ má rad ďalších obranných mechanizmov, ktoré hrajú významnú úlohu pre zachovanie integrity týchto ústnych povrchov, z ktorých mnohé majú viac ako jednu funkciu. Napr., chemické vlastnosti slinných mucínov vedú k vzniku hydrofilných, viskoelastických gélov, ktoré slúžia ako ochranná bariéry epitelu ústnej sliznice, a pôsobia v roztoku ako bakteriálne agregáčny faktory (Marsh a Martin, 2012). Tieto obranné mechanizmy sú rozdelené do nešpecifických a špecifických faktorov. Doterajšie, na rozdiel od protilátok, nevyžadujú predchádzajúcu expozíciu organizmu alebo antigénu a tak poskytujú kontinuálne, široké spektrum ochrany. Nazývame ich aj ako nešpecifické a špecifické faktory vrodenej a adaptívnej imunity.

Vrodená imunita. Mikroorganizmy sú neschopné sa udržať v slinách len delením buniek, pretože sú odstraňované rýchlo prehĺtaním. Hoci sliny obsahujú približne 10^8 živých mikroorganizmov na ml^{-1} , tieto organizmy všetky pochádzajú zo zubného povlaku a ústnej sliznice, najmä jazyka (Marsh a Martin, 2012). Žuvanie a prirodzený tok slín (alebo GCF v gingiválnej štrbine) odstráni mikroorganizmy, ktoré nie sú adherované na povrchy úst, a ich

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

fyzikálne odstraňovanie prehĺtaním je dôležitý obranný mechanizmus. Keď je tok slín blokovaný, napr. sedatívami u pacientov v počas intenzívnej starostlivosti, posun v zložení ústnej mikroflóry môže nastať následkom nadmerného pomnoženia Gram negatívnych druhov, a to môže viesť k pľúcny komplikáciám. Okrem toho, že deskvamácia môže bakteriálnu záťaž zvýšiť na väčšine povrchoch slizníc svetlom. To znamená, že schopnosť mikroorganizmov pevne adherovať na ústne povrchy a vyhnúť sa týmto odstráneniu slinami stáva sa kľúčovou stratégiou ich prežitia. Paradoxne, sliny tiež zohrávajú dôležitú úlohu pri uľahčovaní mikrobiálnej kolonizácii. Molekuly slín, ako sú na prolín bohaté peptidy, staterín a amylázy sa adsorbujú na ústne povrchy za vzniku získaných pelikúl, ktoré poskytujú receptory, na ktoré sú schopné adherovať len niektoré mikroorganizmy. Následne, slinné glykoproteíny pôsobia ako zdroj živín pre rast kolonizujúcich mikroorganizmov. Týmto spôsobom, sliny zohrávajú kľúčovú úlohu pri určovaní, ktoré mikroorganizmy budú súčasťou rezidentnej ústnej mikroflóry, a ktoré budú inhibované a odstránené. Niektoré molekuly slín môžu agregovať mikróby, čo tiež uľahčuje ich odstránenie z úst prehĺtaním; niektoré z týchto mechanizmov sú závislé od vápnika, zatiaľ čo iné nie sú.

Mucíny sú glykoproteíny s vysokou molekulovou hmotnosťou obsahujúcich viac ako 40 % uhlíkov (Dawes a spol., 2015) a sú tvorené podsádkovými, podjazčnými a mnohými drobnými slinnými žľazami. Sú základnou organickou zložkou hlienu, rôsolovitý viskoelastický materiál, ktorý obaľuje všetky slizničné povrchy tela. Ich hlavný proteínový reťazec má postranné oligosacharidové reťazce rôznej dĺžky a zloženia; niektoré z týchto postranných reťazcov sú rozvetvené a koncové cukry sú najmä kyselina sialová a fukóza. Dve chemicky odlišné mucíny boli zistené v slinách človeka, a sú označované ako mucínové glykoproteíny 1 a 2 (MG1 a MG2); MG1 má molekulovú hmotnosť >103 kDa, zatiaľ čo MG2 má len 130 až 150 kDa (Marsh a Martin, 2012). Tieto mucíny nielen zhľukujú ústne baktérie, ale môžu interagovať aj s exogénnymi patogénmi, ako sú *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa*, ako aj vírusmi, vrátane vírusu chrípky. Mucíny, ako MG2 môžu interagovať aj s inými zložkami slín, vrátane sIgA a zlepšiť jej antimikrobiálnu aktivitu. Príbuzná molekula (salivárny aglutinín; m. hm. 340 kDa) je tiež vysoko glykozylovaná a nesie aktívne antigény krvných skupín, a je podobný inému obrannému glykoproteínu prítomnému v pľúcach (Dawes a spol., 2015). V ústnej dutine mucíny vytvárajú ochranný obal mäkkých aj tvrdých tkanív. Mucíny vytvárajú viskózný rôsolovitý povlak na ústnej sliznici, ktorý vychytáva mikroorganizmy a antigény a limituje ich penetráciu do tkanív. Potenciálne nebezpečné mikroorganizmy sú takto odstraňované spolu s zmývajúcim účinkom slín. Mucíny sú zároveň zložkou vytvoreného povlaku a môžu chrániť zuby pred demineralizáciou kyselinami.

Lyozým je malý 14 kDa kationový bázický proteín, ktorý je prítomný vo všetkých hlavných telových tekutinách a je sekretovaný vmedzerými bunkami vývodov, môže agregovať gram-pozitívne (vrátane streptokokov) a gram-negatívne periodontálne patogény. Lyozým môže rozpúšťať mnohé baktérie hydrolýzou glykozidových väzieb v peptidoglykáne bunkových stien. Pri rozpúšťaní bakteriálnych buniek lyozýmu napomáhajú monovalentné

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

anióny, napr. tiokyanáty, perchlórany, jodidy, bromidy, bikarbonáty, nitráty, fluoridy a proteázy.

V slinách bola zistená aj **chitináza**, ktorá atakuje bunkovú stenu kvasiniek. K ďalším nešpecifickým faktorom v ústnych sekrétoch patrí **laktoferín** (m. hm. = 75 kDa), ktorý je vysoko afinitný železo-viažuci glykoproteín. Železo je nevyhnutné pre rast mikrobov a preto bude hosťiteľ izolovať tento kation pomocou železo-viažucich proteínov. Hlavnou úlohou mikrobiálnych patogénov vstupujúcich do hosťiteľa je zabezpečiť dostatok železa pre svoj rast. Železa prostý laktoferín (*apo-laktoferín*), môže byť baktericídny pre mnohé gram-pozitívne a gram-negatívne baktérie, ale je potrebná priama väzba tohto proteínu na ich bunkový povrch (Dawes a spol., 2015). Laktoferín je multifunkčný proteín, ktorý má bakteriostatické, baktericídne, fungicídne, antivírusové, protizápalové a imunomodulačné účinky.

Slinný peroxidázový enzýmový systém (**sialoperoxidáza**) môže tvoriť tiokyanatany pri neutrálnom pH alebo kyselinu tiokyanatú pri nízkej hodnote pH v prítomnosti peroxidu vodíka, a obe môžu inhibovať glykolýzu baktériami plaku. Peroxid vodíka je tvorený ako koncový produkt metabolizmu mnohých rezidentných bakteriálnych druhov, vrátane *Streptococcus sanguinis* a *S. mitis*. Myeloperoxidáza sa nachádza v polymorfonukleárných (PMN) leukocytoch, ktoré migrujú do gingiválnej štrbiny ako súčasť zápalovej odpovede hosťiteľa na akumuláciu plaku, a môže prispieť k celkovej peroxidázovej aktivite v slinách.

V slinách boli zistené aj **antimikrobiálne peptidy** (označované aj ako hosťiteľské obranné peptidy, nakoľko tieto môžu vykazovať imunomodulačné účinky), vrátane histatínov a defenzínov. Antimikrobiálne peptidy sú malé, kationové peptidy (majúce <50 aminokyselín), ktoré môžu pôsobiť synergicky s ďalšími vrodenými obrannými molekulami, ktoré nielen že inhibujú exogénne patogény, ale poskytujú aj prostriedky, ktorými hosťiteľ môže vyvíjať určitú kontrolu nad rezidentnou ústnou mikroflórou. Tieto peptidy tiež viažu a neutralizujú potenciálne protizápalové molekuly nachádzajúce sa na povrchu mikroorganizmov (ako je lipopolysacharid), a sú chemotaktické pre obranné bunky hosťiteľa (neutrofily a lymfocyty), a týmto spôsobom hrajú dôležitú imunomodulačnú úlohu.

Slinná peroxidáza je enzým produkovaný acinárnymi bunkami slinných žliaz. Ich antimikrobiálny účinok spočíva z časti v oxidácii slinných tiokyanátov na hypotiokyanáty a kyselinu hypotiokyanovú. Tieto oxidované produkty reagujú so SH skupinami enzýmov. Na druhej strane slinná peroxidáza odstraňuje peroxid vodíka tvorený mikroorganizmami ústnej dutiny a tým znižuje tvorbu kyselín v zubnom plaku.

Histatíny (na histidín bohaté peptidy) sú rodinou malých zásaditých peptidov (3 až 5 kDa), s vysokým obsahom histidínu a sú produkované acinárnymi bunkami príušných a podčelustných žliaz. V ľudských slinách je mnoho histatínov, z ktorých väčšina sú fragmenty degradácie dvoch pôvodných molekúl, histatínu 1 a histatínu 3. Medzi hlavné histatíny v slinách patria histatíny 1, 3 a 5 (Melino a spol., 2014). Potláčajú rast mnohých orálnych mikroorganizmov, najmä *Candida albicans*, *P. gingivalis*, *S. mitis* a *S. mutans*.

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Jednotlivé histatíny môžu mať odlišné funkcie, alebo môžu pôsobiť optimálne za špecifických podmienok. Napríklad, histatín 5 je aktívnejší ako histatíny 1 a 3, pokiaľ ide o usmrtenie naklíčených kvasinkových buniek, a má najväčšiu antibakteriálnu aktivitu. Naproti tomu histatín 3 je silnejší inhibítor klíčenia kvasiniek. Histatíny 1 a 3 sa javia ako najúčinnéjšie pri nízkom pH a nízkej iónovej sile. Histatíny 5 a 8 môžu inhibovať koagregáciu medzi ústnymi baktériami, zabraňujú rastu *S. mutans*, a agregácii ústnym streptokokom. Histatíny môžu inhibovať aj proteázy hostiteľa a baktérií a adhezín, a zabraňujú indukciu cytokínov proteínmi vonkajšej membrány baktérií. Tieto peptidy majú široké spektrum antifungálnej a antibakteriálnej aktivity, a disponujú vlastnosťami, ktoré môžu prepojiť vrodený a získaný imunitný systém.

Defenzíny sú rodinou antibakteriálnych, antifungálnych a antivírusových (vrátane HIV) peptidov so širokým spektrom účinku. Niektoré sú exprimované konštitutívne (napr. ľudský- β -defenzín-1) v slinných žľazách, oproti tomu iné sú indukované bakteriálnymi a zápalovými mediátormi. Humánne β -defenzíny (HBDs) chránia povrchy slizníc, vrátane ďasní, líc a jazyka. HBDs môžu byť spojené s mucínom, a tým ich chránia pred degradáciou a uľahčujú ich kontakt s baktériami agregovanými s mucínom. α -Defenzíny sa vyskytujú predovšetkým (a to vo vysokých koncentráciách) v neutrofiloch a sú zodpovedné za zabíjanie mikróbov v granulách. Oproti tomu β -defenzíny sa nachádzajú hlavne v epiteliálnych bunkách a môžu byť detekované aj v monocytoch a dendritických bunkách. HBDs boli zistené aj v slinách, v GCF a v spojovacom epitely ďasien, pravdepodobne v dôsledku ich uvoľnenia z fagocytov hostiteľa a iných buniek obrannej línie, ako sú neutrofily, makrofágy, monocyty a dendritické bunky. Koncentrácia peptidov pochádzajúcich z neutrofilov sa zvyšujú po zápale v dutine ústnej.

Cystatíny sú rodinou cysteín obsahujúcich fosfoproteínov sekretovaných acinárnymi bunkami. Do ústnej dutiny sa dostávajú aj prostredníctvom gingiválnej tekutiny. Pôsobia ako inhibítory tiolových proteáz suspektných periodontopatogénnych mikroorganizmov.

Sliny sa nedostávajú do gingiválnych štrbín a táto oblasť je kontrolovaná antimikrobnými faktormi z plazmy. Kontinuálnym prestupom gingiválnej tekutiny sú zmývané neadherentné baktérie. Gingiválna tekutina obsahuje aj IgM, IgG, IgA, komplement a leukocyty. Leukocyty v gingiválnej tekutine štrbín sú z 90% polymorfonukleáry a 10% mononukleárne bunky. Z mononukleárnych buniek 60% tvoria B lymfocyty, 20-30% T lymfocyty a 10-15% makrofágy.

Špecifické a nešpecifické antimikróbné faktory v ústnej dutine nepôsobia izolovane. Môžu byť medzi nimi synergické aj antagonistické vzťahy.

Katelicidín (peptid LL-37) je ďalší antimikrobiálny peptid, ktorý je vylučovaný bunkami epitelu a je tiež neutrofilmi, ale je prítomný aj v sekundárnych granulách, ktoré degranulujú extracelulárne. Syntetické analógy antimikrobiálnych peptidov sú skúmané ako nové

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

strategické látky na inhibíciu konkrétnych ústnych mikróbov a ako imunomodulačné liečivá (Davidopoulou a spol., 2012).

Ďalšie proteíny v slinách, ktoré môžu ovplyvniť rast mikroorganizmov sú *cystatiny*, rôznorodá skupina cysteínových inhibítorov proteázy a najmenej deväť z nich je prítomných v ľudských slinách. Líšia sa nábojom, stupňom fosforylácie a len nepatrne v molekulovou hmotnosťou (14 až 15 kDa). Ich proteázy inhibujúce vlastnosti naznačujú, že ich úloha spočíva v kontrole proteolytickej aktivity, buď zo strany hostiteľa, ako sú proteázy uvoľnené počas zápalu, alebo zo strany mikroorganizmov. Cystatiny sú schopné tvoriť komplexy s mucínom, ktoré by mohli im umožniť udržať sa na rôznych povrchoch úst, kde môžu hrať úlohu v modulácii procesov de-/remineralizácie skloviny (Fábián a spol., 2015). K ďalším inhibičným proteínom patrí *inhibitor sekrečných leukocytárných proteáz* (SLPI), ktorý má tiež antimikrobiálne a antivírusové vlastnosti, *tkanivové inhibitory metaloproteináz* (TIMPs), *kalprotektín* (kalcium a zinok-viažuci proteín, ktorý môže inhibovať rast baktérií), a *chromogranín A* (s protiplesňovými a protikvasinkovými vlastnosťami). Mnohé vrodené antimikrobiálne faktory sa bežne vyskytujú v exokrinných sekrétoch (slzy, mlieko, sperma a vaginálny sekrét), čím potvrdzujú svoju základnú úlohu v ochrane hostiteľa pred infekciou (Gorr, 2012).

Získaná imunita. Zložky získanej imunity hostiteľa (intraepiteliálne lymfocyty a Langerhansove bunky, IgG a IgA) sú prítomné na a v sliznici, kde pôsobia bariéra voči prenikajúcim antigénom. Prevládajúcim imunoglobulínom v zdravých ústach je sekrečný IgA (sIgA), ktorý je produkovaný plazmatickými bunkami v slinných žľazách. sIgA sa skladá z ťažkých a ľahkých reťazcov (300 kDa), sekrečnej komponenty (70 kDa) a J reťazca (15 kDa). J reťazec spája dve molekuly IgA do diméru, pričom sekrečná zložka stabilizuje molekulu a znižuje jej náchylnosť k poškodeniu kyselinami alebo bežnými proteázami. sIgA môže zhlukovať ústne baktérie, modulovať aktivitu enzýmov a inhibovať zachytávanie baktérií na epitel úst a na sklovinu. sIgA je obvyčajne považovaný za prvú líniu obrany. V porovnaní s inými triedami imunoglobulínov, sIgA má slabú komplement-aktivačnú a opsonizačnú silu a preto je málo pravdepodobné, že spôsobí poškodenie tkanív akýmkoľvek nepriamym účinkom zápalovej odpovedi. V slinách sa nachádzajú aj ďalšie komponenty (IgG, IgM, IgA a komplement), ktoré často pochádzajú z GCF. GCF obsahuje leukocyty, z ktorých približne 95% sú polymorfonukleáry a zvyšok sú lymfocyty a monocyty (Kreth a spol., 2015).

Produkcia špecifických protilátok môže byť stimulovaná bakteriálnymi antigénmi spojenými s plakom v marginálnej gingíve alebo na sliznici dutiny ústnej. Boli detegované protilátky v slinách s aktivitou proti mnohým baktériám, vrátane orálnych streptokokov, pričom boli popísané aj cirkulujúce protilátky (najmä IgG) voči rôznym orálnym mikrobiálnym antigénom. Pri neprítomnosti zápalu, je prirodzene nízka úroveň komplementu, polymorfonukleárov a protilátkami sprostredkovanej fagocytózy. Protilátky môžu ovplyvniť ústnu mikroflóru aj tým, že vplývajú na ich kolonizáciu alebo inhibujú ich metabolizmus.

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Výštrene GCF, slín a séra je predmetom skúmania, najmä na zlepšenie diagnostikovania chorôb, alebo na skrining rizikových jedincov.

Vyššie popísané antimikrobiálne faktory nemusia fungovať izolovane. Kombinácia špecifických a nešpecifických obranných mechanizmov hostiteľa pôsobia synergicky tak, že napr. lyzozým a slgA môžu reagovať so slinnými aglutinínmi (mucíny), a tak sú priamo prítomné na imobilizovaných bunkách. Ďalšie synergické kombinácie predstavujú mucíny a slgA alebo peroxidáza v slinách. Možno je prekvapivé, že napriek obrovskému množstvu antimikrobiálnych faktorov, ústa skrývajú rôznorodú kolekciu mikroorganizmov. Naozaj, táto rezidentná mikroflóra vykazuje viaceré prospešné funkcie pre hostiteľa.

Vek. Zloženie ústnej mikroflóry kolíše vekom. Ústna dutina je pri narodení prakticky sterilná. Už za 6 až 10 hodín sa osídli mikroorganizmami z prostredia a najmä od matky. Prvé sú pravdepodobne streptokoky, najmä *S. mitis*, *S. oralis* a *S. salivarius*. Už v prvom roku života sú prítomné zástupcovia *Streptococcus*, *Neisseria*, *Veillonella*, *Staphylococcus* a v nižších počtoch aj *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Rothia*, *Fusobacterium* a *Prevotella*. Po prerazení zubov sa postupne zvyšuje aj počet obligátne anaeróbných baktérií. Počet čiero-pigmentovaných anaeróbov a spirochét stúpa po puberte, pravdepodobne následkom hormonálnych zmien. V starobe začnú začínajú prevládať stafylokoky, laktobacily a aktinomycéty, vo veku 70-80 rokov stúpa podiel *Candida albicans*.

Hormonálne zmeny. Dobré známe sú počas puberty a gravidity následkom zvýšenej hladiny steroidných hormónov. V tomto období sú častejšie zápalové ochorenia ústnej dutiny.

Stres je jedným z najvýznamnejších vplyvov na homeostázu všetkých zložiek ústnej dutiny. Preto je pri posúdení stavu ústnej dutiny tomuto fenoménu venovať mimoriadnu pozornosť.

Genetické faktory zohrávajú tiež významnú úlohu (pekné zuby určitých etník). Ale nesmieme ich úlohu preceňovať, čo sa týka zdravej ústnej dutiny bez náležitej starostlivosti o ústnu hygienu.

Štúdie paradentózy naznačili, že pohlavie, genóm hostiteľa a etnický pôvod môžu ovplyvniť citlivosť ku chorobe, prípadne môžu vplyvať na mikrobiótu. Dôvody nie sú známe, ale môžu odrážať nejakú zmenu v lokálnej imunitnej odpovedi. Napr. IgG2 je zvýšený pri niektorých formách ochorenia paradontu a hladiny tohto imunoglobulínu súvisia s genómom hostiteľa. Genetické polymorfizmy spojené s interleukínom-1 (IL-1) alebo ďalšími cytokínmi, môžu zlepšiť pravdepodobnosť detekcie určitého kľúčového paradontálneho patogéna a predispozície jedinca na paradentózu. Široký záchyt kmeňov *Aggregatibacter* (predtým *Actinobacillus) actinomycetemcomitans* (spôsobujúcich agresívne paradontitídy) z rôznych zemepisných oblastí, boli testované na ich genetickú príbuznosť. U kmeňov sérotypu b sa zistila nadprodukcia faktora virulencie (leukotoxínu) a boli všetky izolované od jednotlivcov, ktorí mohli pochádzať zo severo západnej Afriky. Dospievajúci, ktorí prenášali tieto kmene

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

sérotypu b mali 18-násobne zvýšené riziko vzniku lokalizovanej agresívnej parodontitídy. V skupine dospelých s parodontitídou, *P. gingivalis* a anaeróbne streptokoky sa zistili u afroamerických jedincov, zatiaľ čo *Fusobacterium nucleatum* bolo izolované skôr u kaukazoidných jedincov. Táto otázka je z hľadiska vysvetlenia veľmi zložitá. Bol zistený trend zvýšenej pravdepodobnosti detekcie dvoch alebo viacerých parodontálnych patogénov (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*) v slinách hispánov a ázijsko-američanov v porovnaní s belochmi, významnejší bol vzťah k dĺžke času, odkedy ich rodičia žili v USA ako len ku etnicite. Detekcia týchto vybraných baktérií parodontu v slinách klesá počtom rokov pobytu rodičov v USA. Bola porovnávaná aj subgingiválna mikroflóra dvojčiat. Mikroflóra dvojčiat žijúcich pohromade bola viac podobná ako u nedvojčiat rovnakého veku. Ďalšie analýzy ukázali, že mikroflóra identických dvojčiat bola viac podobná ako u nejednovaječných dvojčiat, čo naznačuje nejaký genetický vplyv (Debabrata a spol., 2015).

Antimikrobiálne látky a inhibítory. Okrem obranných látok hostiteľa prítomných v slinách a GCF, môže byť rezidentná ústna mikroflóra regulovaná nízkymi koncentráciami antimikrobiálnych látok a činidlami proti tvorbe plaku. Činidlá proti plaku môžu odstrániť už adherované bunky, alebo zabrániť adhézii nových buniek, bez toho aby tým boli baktérie zabité, oproti tomu antimikrobiálne látky majú priamy inhibičný účinok na mikroorganizmy, ktoré môžu byť letálne (baktericídne) alebo inhibičné, ale tiež aj neletálne (bakteriostatické). Oba typy činidiel môžu byť dodané zubnou pastou alebo ústnou vodou. Zubné pasty obsahujú čistiace prostriedky, ako sú laurylsulfát sodný ako aj detergenty.

Detergenty obvykle nie sú prítomné v ústach po dlhú dobu, a tak ich účinok je zvyčajne prechodný. Fluoridy sú prítomné vo väčšine zubných pást a ich primárny účinok proti kazu sa vytvára ich vbudovaním do skloviny a vplyvom na de- a remineralizáciu, môžu ale inhibovať aj metabolizmus baktérií, najmä glykolýzy, a to už v nízkych koncentráciách, najmä v kyslom prostredí. Týmto spôsobom, fluoridy môžu pomôcť profylakticky potlačiť kariogenné a acidotolerantné druhy, ako sú streptokoky skupiny mutans. Mnoho zubných pást a ústnych vôd sa vyrába v súčasnosti s obsahom osvedčených antimikrobiálnych činidiel. Do zubných pást boli úspešne pridávané kovové ióny, fenolové zlúčeniny a rastlinné extrakty. Pravidelné používanie výrobkov obsahujúcich tieto látky bola starostlivo posúdená, aby sa zabezpečila ich selektívna činnosť tak, aby inhibovali najmä organizmy spôsobujúce ochorenia dutiny ústnej, a zároveň boli len minimálne poškodené prírodné prospešné vlastnosti rezidentnej mikroflóry. Ďalšie antimikrobiálne látky môžu byť dodávané prostredníctvom ústnych vôd, a najúčinnější prostriedok k dnešnému dňu je chlórhexidín. Táto látka má antibakteriálnu, antivírusovú a antifungálnu aktivitu, ako aj účinok proti tvorbe plakov a sú použiteľné u jedincov u ktorých je starostlivosť o orálnu hygienu komplikovaná. Ďalšie ústne vody obsahujú antimikrobiálne látky, vrátane „éterických olejov“ (ako sú tymol a mentol), Triclosan-u a rastlinných extraktov. Niektoré z týchto látok môžu pôsobiť proti zápachu z úst. Antibiotiká podávané systémovo alebo perorálne vstupujú do slín alebo GCF a môžu

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

ovplyvniť stabilitu ústnej mikroflóry. Počas niekoľkých hodín po požití profylakticky vysokej dávky penicilínu alebo erytromycín, mikroflóra v slinách môže byť potlačená, čo umožní premnoženie kvasiniek alebo baktérií odolných voči antibiotikám. Tieto rezistentné baktérie môžu pretrvávať vo vysokých počtoch po dobu niekoľkých týždňov.

Napriek pravidelným odchýlkam zo strany hostiteľa a v environmentálnych faktoroch, ústna mikroflóra zostáva relatívne stabilná v svojom zložení a v priebehu času. Táto stabilita je nazývaná mikrobiálna homeostáza.

Ústna dutina nie je jednotné stanovište pre mikrobiálny rast a kolonizáciu. Rôzne povrchy vytvárajú rôzne stanovištia v dôsledku svojej fyzikálnej povahy a biologických vlastností. Medzi ne patria rôzne povrchy slizníc a zubov, ktoré sú unikátne pre mikrobiálnu kolonizáciu a poskytujú príležitosť pre tvorbu biofilmu (zubného plaku).

Povrchy úst sú zvlhčované slinami, zatiaľ čo gingiválnu štrbinu omýva GCF. Obe kvapaliny odstraňujú slabo adherované mikroorganizmy splachovaním, a poskytujú zložky prirodzenej a adaptívnej imunity, ktoré pomáhajú regulovať kolonizáciu baktérií a plesní. Sliny a GCF prispievajú k tvorbe pelikúl a sú primárnym zdrojom živín pre orálne mikroorganizmy. Rôzne druhy baktérií vytvárajú konzorcium aby sa doplnili svojimi vzormi glykozidázovej a proteázovej činnosti za účelom rozkladu glykoproteínov hostiteľa. V týchto dráhach zohrávajú sliny a GCF kľúčovú úlohu v mikrobiálnej ekológii úst. Zložky diéty majú oveľa menší vplyv na zloženie ústnej mikroflóry, aj keď častý príjem kvasiteľných sacharidov môže viesť k zvýšeniu acidogénnych a acidotolerantných organizmov, ktoré sú potenciálne kariogénne v dôsledku zníženia pH následkom ich katabolizmom. Ďalšími faktormi, ktoré ovplyvňujú rast mikroorganizmov v ústach patrí Eh a pH v danej lokalite, aktivita obranných faktorov hostiteľa a prítomnosť antimikrobiálnych látok.

Existuje dynamická interakcia medzi prostredím ústnej dutiny a zložením a metabolizmom rezidentnej orálnej mikroflóry. Preto podstatá zmena v kľúčovom ukazovateli prostredia môže narušiť rast mikrobov a tým prirodzenú rovnováhu orálnej mikroflóry v prospech potenciálne patogénnych mikroorganizmov.

Sekréčný IgA. SigA je základný imunoglobulín prítomný v slinách a ostatných sekrétoch v ústnej dutine. Je to polymér zložený z dvoch (alebo viacerých) IgA monomérov (300 000 Da), spojovacieho reťazca (J, 15 600 Da) a sekretorickej zložky (SC, 70 000 Da). Každá monomérna IgA je tvorená zo štyroch polypeptidov, dvoch ťažkých reťazcov α a dvoch ľahkých reťazcov (κ a λ) prepojených kovalentnou disulfidickou väzbou.

U ľudí sa vyskytujú dva poddruhy IgA (IgA1 a IgA2). Medzi najdôležitejšie biologické funkcie IgA patria:

- inhibícia adhérence baktérií,
- inaktivácia bakteriálnych enzýmov a toxínov,
- synergia s ostatnými obrannými mechanizmami,

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

- neutralizácia vírusov,
- aktivácia komplementu,
- bunkové funkcie závislé na IgA a
- imúnna exklúzia.

ORÁLNE MIKROORGANIZMY U ZDRAVÝCH JEDINCOV

Každé ľudské telo je plné mikroorganizmov. V skutočnosti, odhady naznačujú, že počet mikrobiálnych buniek v mikrobióme u priemerného človeka prevyšuje ľudské bunky desať ku jednej (Backhed a spol., 2005; Hamady a Knight, 2009). Kolektívny genóm tohto eklektického konzorcia bol nazvaný **mikrobióm** (Hooper a Gordon, 2001). Anatomické rozdiely medzi časťami tela majú za následok osobitú a jedinečnú kolonizáciu baktériami, kvasinkami, prvokmi, s archea a vírusmi (Wilson, 2005). Súčasný výskum naznačuje, že bakteriálna zložka ľudskej mikrobiómy je početne dominantná (Tlaskalová-Hogenová a spol., 2004).

Slizničné povrchy, vrátane ústnej dutiny, horných dýchacích ciest, žalúdka, tenkého čreva, hrubého čreva a pohlavného a močového ústrojenstva, predstavujú primárne miesta pre mikrobiálne osídlenie (McFarland, 2000). Dôležité výnimky sú: najväčší orgán ľudského tela – koža a povrch zubov majú takisto početnú mikrobiálnu populáciu (Elsner, 2006). Kvalitatívne a kvantitatívne rozdiely medzi týmito mikrobiómami sa pripisujú mnohým faktorom, vrátane: imunitných reakcií hostiteľa, dostupnosti živín, pH, oxidačnému potenciálu, teplote, vlhkosti a čo je možno najdôležitejšie dostupnosti vhodných miest adhérence (McFarland, 2000). Heterogenita v danej anatomickej lokalizácii prispieva k zložitosti mikrobiómu, napr. ústna dutina má k dispozícii niekoľko rôznych povrchov pre kolonizáciu a významné rozdiely medzi povrchmi zo strany hostiteľov aj environmentálnymi faktormi (Mager a spol., 2003).

Orálne mikrobiálne spoločenstvo u ľudí je komplexné a pestré. Je reprezentovaná viac ako 300 druhmi baktérií, môžu sa na nej podieľať aj zástupcovia *Protozoa*, kvasinky a mykoplazmy. Najbežnejšie mikroorganizmy sú uvedené v tabuľke 3. Ich distribúcia kvalitatívne i kvantitatívne kolíše v závislosti od prostredia (lokality). Na zuboch je väčšie množstvo streptokokov (*S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. rattus* a *S. sanguis*), oproti tomu z jazyka je izolovaný najmä *S. salivarius*. *S. mutans* a *S. sanguis* sa v ústnej dutine objavujú len po prerezaní zubov (Smith a spol., 1993).

Na zuboch mikroorganizmy kolonizujú v hustých masách vytvárajúcich zubný plak (Marsh a Martin, 2012). Zubný plak pozostáva z mikroorganizmov vytvárajúcich komplexnú matrix zložený z extracelulárnych produktov mikroorganizmov a zložiek slín. Zloženie mikroorganizmov v zubnom plaku kolíše v závislosti od miesta a času vzorkovania. Zubný plak vytváraný na povrchu zubov chráni ich pred mechanickým trením, podobne aj oblasť

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

medzi dvoma zubami (aproximálny povrch), subgingiválna oblasť (gingiválna štrbina) a jamky a štrbiny kusavých (rezavých) povrchov. Zo supragingiválneho zubného plaku sú izolované najmä gram pozitívne, fakultatívne anaeróbne baktérie, najmä druhy streptokokov a *Actinomyces*. Gram negatívne baktérie rodov *Veillonella*, *Haemophilus* a *Bacteroides* sú občasne izolované z nižších oblastí.

Tab. 3 – Najčastejšie mikroorganizmy ústnej dutiny u človeka

Skupina	Rod
<i>Gram pozitívne koky:</i>	
Aeróbne alebo fakultatívne anaeróbne	Streptococcus Enterococcus Micrococcus
Obligátne anaeróbne	Peptostreptococcus Peptococcus
<i>Gram pozitívne tyčinky:</i>	
Aeróbne alebo fakultatívne anaeróbne	Lactobacillus Corynebacterium Actinomyces Arachnia Rothia
Obligátne anaeróbne	Eubacterium Propionibacterium Bacillus Clostridium
<i>Gram negatívne koky:</i>	
Aeróbne alebo fakultatívne anaeróbne	Neisseria/Branhamella
Obligátne anaeróbne	Veillonella
<i>Gram negatívne tyčinky:</i>	
Aeróbne alebo fakultatívne anaeróbne	Campylobacter Eikenella Actinobacillus Capnocytophaga Haemophilus Simonsiella
Obligátne anaeróbne	Bacteroides Fusobacterium Porphyromonas Prevotella Leptotrichia Wolinella/Selenomonas
<i>Ostatné mikroorganizmy:</i>	
	Mycoplasma Candida Spirochetes Protozoa

V zdravých gingiválnych štrbinách je celkový kultivovateľný počet baktérií relatívne nízky (10^3 až 10^6 CFU /colony forming unit/ na štrbinu). V subgingiválnom plaku tiež dominujú gram pozitívne mikroorganizmy – *Actinomyces* a streptokoky. Zdá sa, že mikrobióta z gingiválnej štrbiny sa rozšírila zo supragingiválneho plaku. V gingiválnych štrbinách zdravých jedincov sa často nachádzajú aj čierne pigmentované tyčinky typu *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella loescheii* a *Prevotella denticola*.

Podstatne menej informácií máme k dispozícii o mikroorganizmoch slizničných povrchov. Na orálnych slizniciach žije podstatne menej baktérií 0 až 25 CFU/epitelovú bunku. V týchto oblastiach prevládajú streptokoky, najmä *S. oralis* a *S. sanguis*. Môžu sa tu nachádzať aj zástupcovia rodov *Neisseria*, *Haemophilus* a *Veillonella*. Na jazyku je podstatne viac mikróbov aj početne (100 CFU/epitelovú bunku) aj čo sa týka rozmanitosti druhovej.

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Najpočetnejšie zastúpené sú druhy rodov *Streptococcus* a *Veillonella*. Ďalej sa tu nachádzajú druhy *Peptostreptococcus*, gram pozitívne tyčinky (najmä druhy *Actinomyces*), druhy *Bacteroides* a iné gram negatívne tyčinky. V malom počte sa môžu zisťovať aj čierne pigmentované obligátne anaeróbne tyčinky a spirochéty, ktoré sú spájané s chorobami periodontu. Jazyk môže byť rezervoárom mikroorganizmov zúčastňujúcich sa na chorobách periodontu.

Baktérie nachádzajúce sa v slinách pochádzajú z rôznych oblastí ústnej dutiny. Mikrobiálne zloženie slín je podobné jazyku.

Zo všetkých mikrobiálnych spoločenstiev, ktorým sa darí na ľudskom tele, mikrobiológia ústnej dutiny je považovaná za jednu z najviac rôznorodých, až druhá je mikrobiológia dolnej časti gastrointestinálneho traktu (Peterson a spol., 2009). Aj keď ústna mikrobiológia obsahuje baktérie, huby, vírusy a *Archaea*, výskum bol doteraz prevažne zameraný na bakteriálne zložky mikrobiálnej flóry, ktorá je číselne dominujúca (Siqueira a Rocas, 2009). Avšak, jedna štúdia hubovej zložky ústnej mikrobiológie, s využitím pyrosekvenovania s vnútorne prepísanými dištančnými primermi (zameraná na nefunkčné RNA, ktorá vykazuje vysoký stupeň variability medzi druhmi) zistila, že počet druhov húb v mikrobiálnej flóre je v rozmedzí od 9 do 23 (Ghannoum a spol., 2010).

Na kultivácii a 16S rRNA založenými technikami molekulárnej mikrobiológie bolo už popísaných viac ako 700 bakteriálnych druhov, ktoré sa nachádzajú v dutine ústnej u človeka (Paster a spol., 2006). Z týchto druhov viac ako 50% ešte nebola kultivovaná, a tým ich úloha v ústnej mikrobiálnej ekológii doteraz nie je úplne objasnená. Predpokladá sa, že v skutočnosti okolo 100-200 druhov sa pravdepodobne nachádza v konkrétnej individuálnej ústnej dutine v danom okamihu (Siqueira a Rocas, 2009). Mnoho druhov sa nachádza na rôznych miestach v ústnej dutine; prechodne v slinách a ako súčasť biofilmov zubov alebo slizníc, zatiaľ čo iné sú taxóny sú závislé od miesta alebo od jednotlivca (McBain a spol., 2005).

Novšie štúdie biodiverzity v dutine ústnej naznačujú, že počet orálnych fylotypov bol predtým značne podceňovaný. Novšie sa používa metagenomika na kvantifikáciu jedinečných fylotypov vo vzorkách plaku u človeka. Použitie pyrosekvenovania 454 a sekvenovania Illumina technológiou sa uvádza 668 bakteriálnych fylotypov z mikrobiológie jediného plaku, čo je podstatne viac ako predchádzajúce odhady okolo 100-200 druhov (Xie a spol., 2010). Podobnou technikou (Keijser a spol., 2008) v slinách zistila 3 621 fylotypov a 6 888 v subgingiválnom plaku, čo je oveľa viac ako predchádzajúce odhady. Preto sa predpokladá, že skutočný počet bakteriálnej diverzity v ústnej dutine sa bude nachádzať okolo 20 000 fylotypov (Siqueira a Rocas, 2009).

Ústne baktérie zistené metodikami dostupnými v súčasnej dobe spadajú do 13 rôznych kmeňov, avšak väčšina z nich patrí do kmeňov *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Spirochaetas* a *Synergistetes* (Siqueira a Rocas, 2009).

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Výrazné rozdiely v relatívnej abundancii kmeňov, rodov a druhov sú udávané v rôznych miestach ústnej dutiny. Napr. pyrosekvenčné údaje (Keijser a spol., 2008) zo slín a subgingiválnych plakov zdravých dospelých jedincov ukázali, že *Actinobacteria*, *Fusobacteria* a *Spirochetes* boli nadmerne zastúpené vo vzorkách plaku, zatiaľ čo *Bacteroides*, *Firmicutes* a *Proteobacteria* boli hojnejšie v slinách. Zároveň zistili, že rody *Prevotella*, *Streptococcus* a *Veillonella* tvorili približne 50% v mikrobióme slín. Z subgingiválnych vzoriek plaku, 50% všetkých sekvencií boli od členov 6 rodov: *Streptococcus*, *Veillonella*, *Corynebacterium*, *Actinomyces*, *Fusobacterium* a *Rothia* (Keijser a spol., 2008).

Na úrovni rodu bolo široké spektrum grampozitívnych baktérií identifikovaných v ústnej dutine, z ktorých dominovali streptokoky (Aas et al, 2005). Boli ešte nájdené ďalšie grampozitívne koky, ako sú *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Gemella* a *Granulicatella* v menšom počte (Aas a spol., 2005). Gram-pozitívne tyčinky a filamenty sú tiež často izolované zo zubného plaku. Kmene *Actinomyces* tvoria hlavnú časť ústnej mikrobiómy, zatiaľ čo laktobacily sú zvyčajne izolované v nižších počtoch, rovnako ako niektoré kmene *Bifidobacterium* (Marsh a Martin, 2012).

Gram-negatívne koky vrátane *Neisseria* a *Veillonella* boli nájdené v mnohých lokalitách v ústnej dutine (Marsh a Martin, 2012). Gram-negatívne tyčinky sú tiež prominentný zástupcovia ústnej mikrobiómy, medzi ktoré patria mnohé fakultatívne anaeróbne druhy, z ktorých väčšina patrí do rodov *Haemophilus*, *Fusobacterium*, *Prevotella* a *Porphyromonas* a tvoria väčšinu obligátne anaeróbných baktérií žijúcich v zubnom plaku (Marsh a Martin, 2012).

BIOFILM DENTÁLNEHO PLAKU

Black (1898), bol jeden z prvých vedcov, ktorý použil termín plak vo vzťahu k bakteriálnej komunite žijúcej na povrchu zubov. Popísal ho ako „želatínový mikrobiálny plak“ ak hovoríme o vzťahu medzi baktériami a zubným kazom (Black, 1898; Listgarten, 1999). Ľudské zuby nie sú uniformnou štruktúrou, ale niekoľko ohraničených povrchov vyznačujúcich sa vývojom vysoko heterogénnych mikrobiálnych biofilmov (Wood a spol., 2000). Sú tu hladké povrchy skloviny a stagnujúce miesta povrchov, ako sú trhliny, štrbiny ďasien a proximálne oblasti, ktoré podporujú tvorbu hustej bakteriálnej populácie (Marsh a Martin, 2012). Do ústnej dutiny priemerného človeka každý deň vstupuje nespočetné množstvo mikroorganizmov, ale len určité množstvo týchto mikroorganizmov prežije ďalej na povrchoch dutiny ústnej alebo v slinách. Selekcia druhov a vytvorenie biofilmu zubného plaku na povrchu zubov nie je náhodná, ale skôr opak je pravda. Zubný plak je štruktúrne a funkčne organizované mikrobiálne spoločenstvo, ktoré má za následok vznik špecifických vlastností a interakcií medzi orálnymi baktériami a hostiteľom (Marsh a Martin, 2012).

Bezprostredne po erupcii zuba či jeho čistení, molekuly hostiteľa baktérie selektívne adsorbujú na povrchu zuba. Tieto proteíny, lipidy a glykolipidy sú kolektívne známe ako

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

získané pelikuly a pôsobia ako receptory poskytujúce prvý bod adhérence pre baktérie. Pelikula je tenšia ako 1 μm a jej vytvorenie trvá približne 90 až 120 minút (Marsh a Martin, 2012). Histochemickým farbením sa preukázalo, že pelikuly sa z veľkej časti skladajú z proteínov hostiteľského pôvodu (Meckel, 1965). Novšie štúdie využívajúce hmotnostnú spektrometriu na analýzu *in vitro* a *in vivo* vytvorených pelikúl zistili, že primárne sú vytvorené prevažne z proteínov a proteínových fragmentov slín (Yao a spol., 2001).

K vytvoreniu biofilmu zubného plaku bakteriálnymi bunkami musia sa tieto dostať do kontaktu so získanou pelikulou. Pohyby v tomto prostredí sú reprezentované najmä pasívnou difúziou uľahčenou sekrétni dutiny ústnej, ale niektoré orálne baktérie sú schopné aj aktívne sa pohybovať v smere k povrchom (Marsh a Martin, 2012). Ak dôjde ku slabému kontaktu, potom fyzikálnochemické interakcie ako elektrostatické a van der Waalsove sily uľahčujú reverzibilnú adhéziu buniek na pelikulu. Ireverzibilná adhérenca je výsledkom stereochemických interakcií medzi adhezínmi (lektíny) alebo sacharidmi na povrchu baktérií a komplementárnych receptorov pelikuly (Marsh a Martin, 2012). Nie všetky druhy orálnych baktérií tvoria potrebné povrchové molekuly potrebné na príľnutie k pelikule; tieto baktérie sú označované ako skoré kolonizátori. Tieto druhy majú veľký význam, pretože budú zaisťovať pripevnenie substrátov, ktoré uľahčia príľnavosť iných druhov baktérií inak neschopných adherovať na povrch zubov (Li a spol., 2004).

Streptokoky sú známe dominujúce baktérie včasného zubného plaku, najmä *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis* a *Streptococcus oralis* (Scheie, 1994). Novšie štúdie vrátane šachovnicového testu DNA-DNA hybridizácie *in vivo* vzoriek zubného biofilmu (Li a spol., 2004) preukázali, že najstarší kolonizátori povrchu zuba sú druhy *Actinomyces*. Dve hodiny po čistení zubov ale podiel *Actinomyces* vo vzorkách biofilmu prevýšili streptokoky, najmä *S. mitis* a *S. oralis* (Li a spol., 2004). Adhérenca neskorých kolonizátorov bola následkom interakcie s bakteriálnymi povrchovými receptormi priekopníckych druhov. Každá interakcia je špecifická a nielen rozpoznanie všetkých druhov a pripájanie sa k sebe navzájom. Zmes špecifických spojov a šanca adhérence medzi bakteriálnymi bunkami zaisťuje kolonizáciu zubov podobným spôsobom pre každý jednotlivý zub a pritom sa tvoria jedinečné a rozmanité biofilmy (Marsh a Martin, 2012).

Supragingiválne a subgingiválne biofilmy sa líšia, pokiaľ ide o zloženie a štruktúru. Svetelné a elektrón mikroskopické štúdie ukázali (Listgarten, 1999), že vo včasnom supragingiválnom plaku dominujú Gram-pozitívne koky, ktoré potom nahradia vláknité baktérie a formácie vláknitých baktérií kukuričného klasu, ktoré sa prichytili na koky. Subgingiválne vzorky biofilmu sa skladajú hlavne z Gram-negatívnych a bičíkatých buniek, ako aj niektorých spirochét (Listgarten, 1999). Architektúra supragingiválneho a subgingiválneho biofilmu bola podrobnejšie popísaná pomocou FISH (Zijngje a spol., 2010). Bazálna vrstva supragingiválneho plaku je zložená len z druhov *Actinomyces*, a druhov *Actinomyces* s reťazcami kokov, vláknitých baktérií vedľa streptokokov a kvasiniek alebo streptokokov rastúcich v tesnej blízkosti druhov *Lactobacillus*. Druhá vrstva pozostáva z

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

heterogénnej zmesi streptokokov, fuzobaktérií, bakteroidét, spirochét a druhov *Lactobacillus*. Subgingiválny plak sa značne líši: bazálna vrstva sa skladá výlučne z druhov *Actinomyces*, intermediárna vrstva predovšetkým z vretenovitých buniek z ktorých najbežnejšie boli *Fusobacterium nucleatum* a *Tannerella forsythia* a vrchná vrstva biofilmu najmä z baktérií patriacich do klasteru *Cytophaga–Flavobacterium–Bacteroides* (CFB klaster) (Zijnga a spol., 2010).

Ak nebude žiadny zásah, bude zubný plak ďalej rásť až do dosiahnutia kritickej veľkosti a zostáva stabilný, pokiaľ nebude narušený čistením zubov alebo inou zmenou prostredia (Marsh a Martin, 2012). V rámci biofilmu sú bunky držané prostredníctvom adhérencie baktérií a existencie extracelulárneho polysacharidového matrix. Pri hodnotení EPS pomocou TEM, ktoré boli produkované šiestimi členmi orálneho biofilmu (Reese a Guggenheim, 2007), sa zistilo, že *in vivo* biofilm EPS je veľmi zložitý, že zloženie je kontinuálny výsledok rôznych anabolických a katabolických enzýmov produkovaných rôznymi druhmi baktérií (Reese a Guggenheim, 2007). Zubný plak je však relatívne otvorená štruktúra s množstvom tekutín vyplňujúcich kanáliky, ktoré sú považované za rudimentárne cirkulačné štruktúry umožňuje difúziu živín, metabolitov, toxíny a iných látok pôvodom od hostiteľa a baktérií po celom biofilme (Wood a spol., 2000).

Koagregácia bola definovaná ako „rozpoznanie medzi povrchovými molekulami na dva rôzne bakteriálne bunkové typy, ktoré tvoria zmiešaný bunkový agregát“. Tento proces rozoznávania a adhérencie medzi geneticky odlišnými baktériami je považovaná za dôležité vo vývoji viacerých druhov biofilmu (Drago a spol., 1997). Prvý popis dentálnych baktérií podali Gibbons a Nygaard (1970); popísali ich interakcie v prirodzenom a umelom prostredí. Avšak veľká väčšina výskumu v tejto oblasti je doteraz zameraná na baktérie z ústnej dutiny človeka, kde koagregácia je obzvlášť významná pre ľahšiu adhérenciu u baktérií spojenými s biofilmom zubného plaku (Rosen a Sela, 2006).

Niektorí vedci predpokladajú že väčšina, ak nie všetky druhy orálnych baktérií koagreguje aspoň s jedným ďalším partnerom (Kolenbrander a spol., 2002). Tieto interakcie môžu byť delené na intergenerické, intragenerické a multigenerické koagregácie (Kolenbrander a spol., 2002). Intergenerické koagregácie (uskutočnené medzi kmeňmi z rôznych rodov) tvoria väčšinu u orálnych baktérií. Aj keď sú menej časté; aj intragenerické interakcie sú medzi orálnymi druhmi baktérií, vrátane niektorých streptokokov a fuzobaktérií (Kolenbrander a spol., 2002). Predpokladá sa, že intragenerické koagregácie medzi orálnymi streptokokmi sú dôležitým činiteľom prevahy tohto rodu v počiatkovej štruktúre zubného plaku (Kolenbrander a spol., 2002), kde sa streptokoky predstavujú 60 až 90% z prvotných kolonizátorov povrchu zuba (Nyvad a Kilian, 1987). Intergenerická koagregácia sa zdá byť dôležitá pre integráciu na neskorých kolonizátorov do mnohodruhového biofilmu zuba (Kolenbrander a spol., 2006), t.j. takéto sú neschopné priamo priľnúť k proteínom, lipidom a glykolipidom, ktoré vytvárajú získané pelikuly. Priľnavosť buniek rovnakého kmeňa baktérií

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

sa nazýva autoagregácia a bola pozorovaná u mnohých druhov orálnych baktérií (Shen a spol., 2005), a tak môže zohrávať dôležitú úlohu pri tvorbe a v štruktúre zubného plaku.

Proces koagregácie je výsledkom vysoko špecifických lektín-sacharidových interakcií, ktoré sa vyskytujú medzi molekulami bunkového povrchu a agregujúcimi baktériami. Koagregácia bola prvýkrát identifikovaná ako interakcia založená na báze lektín-sacharid pri štúdiu agregácie *Actinomyces viscosus* a *Streptococcus sanguis* (McIntire a spol., 1978). Interakcie sa zvrátene pridávajú 0,01 mol laktózy a niekoľkých ďalších cukrov. Inhibícia cukrami bola selektívna, napr. sacharóza, popri iných disacharidov mala len veľmi obmedzený účinok na koagregáciu. Ošetrovanie proteázou rozruší aktívne zložky na povrchu *A. viscosus* ale nie u *S. Sanguis* (McIntire a spol., 1978). Tieto nálezy potvrdzujú aj ďalšie štúdie, ktoré preukázali, že koagregácia medzi mnohými druhmi orálnych baktérií môže byť inhibovaná prídavkom špecifických cukrov, najmä takými, ktorých štruktúra sa podobá laktóze (Rosen a Sela, 2006). Dôkazy o existencii lektínovej zložky v koagregačných interakciách predložili Ellen a Balcerzak-Raczkowski (1977) pri štúdiu koagregácie medzi izolátmi *A. naeslundii* a *S. sanguis* alebo *Streptococcus mitis*. Expozícia teplom (56 °C po dobu 30 minút) alebo proteolytickými enzýmami znižuje schopnosť aktinomycét, ale nie streptokokov koagregovať s neexponovanými baktériami, čo potvrdzuje, že nosičom proteínovej zložky(iek) je *A. naeslundii* (Ellen a Balcerzak-Raczkowski, 1977).

Koagregačné interakcie sú unimodálne, t.j. zahŕňajú iba jednu interakciu receptora lektín-sacharid, alebo bimodálne, zahŕňajúce viac ako jeden receptor na povrchu buniek (Kolenbrander a spol., 2006). Špecifita týchto interakcií má za následok u niektorých orálnych baktérií to, že len s jedným alebo dvoma partnermi agregujú ľahko a veľké množstvo druhov s ktorými nebudú agregovať, zatiaľ čo iné majú viac partnerov (Kolenbrander a spol., 2006). V mnohých štúdiách preukázali bunkové povrchové receptory u konkrétnych druhov, ktoré by mohli byť zodpovedné za koagregáciu. Napr., Maeda a spol. (2004) skúmali aktivitu glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenázy (GAPDH) na povrchu buniek na rad kmeňov orálnych streptokokov a schopnosť týchto kmeňov koagregovať s *P. gingivalis*. Hoci GAPDH je enzým, ktorý by mal vykazovať väzobné funkcie, vysoké hladiny GAPDH korelovali s koagregáciou streptokokov s fimbriami na bunkovom povrchu *P. gingivalis* (Maeda et al., 2004). Koagregácia medzi *Treponema denticola* a *Porphyromonas gingivalis* alebo *Fusobacterium nucleatum*, bola spoľahlivo charakterizovaná (Rosen a spol., 2008). Hlavný proteín vonkajšieho plášťa (MSP) u *T. denticola* bol analyzovaný dodecylsulfát polyakrylamid gélovou elektroforézou, farbením PAS a analýzou monosacharidov. Popri štúdiu proteázy a väzby cukrov táto metodika odhalila, že MSP *T. denticola* je glykoproteín sprostredkujúci koagregáciu s *P. gingivalis* a *F. nucleatum* cez ich proteínové a sacharidové skupiny (Rosen a spol., 2008).

Koagregácia nie je predpokladom životaschopnosti bakteriálnej bunky, pretože sú často pozorované agregované mŕtve bunky a po zmiešaní s kompatibilným partnerským kmeňom(mi) môžu odumrieť okamžite. Tieto pozorovania podporujú hypotézu, že bunkové

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

povrchové molekuly sú skôr zodpovedné za rozpoznávanie, proces agregácie je aktívny proces, ktorý vyžaduje životaschopnosť buniek (Kolenbrander a spol., 2006).

Vizuálny test opísaný Kolenbrander-om (1995) bol často používaný v štúdiách koagregácie medzi orálnymi baktériami. Hustá suspenzia dvoch rôznych druhov sa zmieša a hodnotí sa rozsah koagregácie (t.j. veľkosť vytvorených vločiek) na stupnici od nuly do štyroch (Kolenbrander, 1995). Tento test využíva skutočnosť, že koagregácia medzi dvoma druhmi možno pozorovať voľným okom (Kolenbrander, 1995). Kolenbrander (1995) popísal použitie vizuálneho testu pre identifikáciu koagregácie medzi druhmi zo 17 najčastejšie izolovaných rodov v dutine ústnej. Intragenerická koagregácia bola dokumentovaná iba medzi streptokokmi a obmedzeným počtom *Actinomyces*, zatiaľ čo k intergenerickej koagregácii došlo medzi všetkými testovanými rodmi (Kolenbrander, 1995). Vizuálne stanovenie je pomerne rýchle a ľahko realizovateľné, ale najmä užitočné pri skríningu veľkého počtu baktérií na identifikáciu ich koagregujúcich partnerov. Je však obmedzená kvôli subjektívnemu bodovaciemu systému.

Bolo popísaný aj kvantitatívny test na meranie koagregácie na základe spektrofotometrickej analýzy supernatantu (Ikegami a spol., 2004). Ikegami a spol. (2004) študovali na leucín bohatý opakujúci sa proteín LrrA (kódovaný génom *IrrA*), na bunkovom povrchu *Treponema denticola* a zistil, že hrá úlohu v koagregácii s *Tannerella forsythensis*. V rámci štúdie bola zistená rozsiahla koagregácia medzi *T. denticola* (*IrrA* zmutované a nemutované kmene) a *T. forsythensis* pomocou spektrofotometrickej analýzy. Táto metóda umožňuje výpočet hodnôt percentuálnej koagregácie a môže poskytnúť viac než porovnateľné analýzy pomocou vizuálneho testu.

Oba testy koagregácie, vizuálny aj spektrofotometrický sa spolieha na predchádzajúcu kultiváciu baktérií. Veľký podiel nekultivovateľných druhov, ktoré obsahuje ústna mikróflóra nemôže byť študovaná použitím týchto metód. Nedávno využitím testu väzby na membránu v spojení s PCR-DGGE bola študovaná koagregácia medzi *F. nucleatum* alebo *S. mutans* a bunkami zo vzoriek slín človeka, ktorá by mohli zahŕňať aj nekultivovateľné druhy. *F. nucleatum* alebo *S. mutans* boli imobilizované na nitrocelulózových membránach a potom sa naniesli sliny, nenaviazané bunky boli zmyté a naviazané bunky analyzované pomocou PCR-DGGE. Prúžky vyrezané z gélu boli sekvenované s DGGE a ukázalo sa, že koagregácie, ktoré predtým neboli charakterizované zahrňovali aj nekultivovateľné druhy (Wang a spol., 2011).

Pokiaľ ide o charakterizáciu molekulárneho základu interakcií počas koagregácie, určité štúdie využili ošetrovanie teplotou a proteínmi a prídavkom laktózy a ďalších podobných cukrov (Kolenbrander a spol., 2006; Rosen a Sela, 2006). Podobné metódy boli použité aj predtým na štúdium mechanizmov koagregácie medzi *Actinomyces viscosus* a *Streptococcus sanguis*. Koagregácia bola inhibovaná laktózou, beta-metyl-D-galaktozidom, D-galaktozou a oštrením proteázou u *A. viscosus*. Predpokladá sa, že proteíny z fibríl *A. viscosus* pri styku s povrchovými sacharidmi buniek *S. sanguis* zodpovedajú za sprostredkovanie koagregácie (McIntire a spol., 1978).

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

BAKTERIÁLNE INTERAKCIE V ÚSTNEJ DUTINE

Zubný plak je klasický príklad mnoh druhového biofilmu baktérií. Vlastnosti a správanie jednotlivých druhov, ktoré v ňom existujú sú často odlišné od vlastností a správania rovnakého druhu ak rastie v kvapalnej alebo v monokultúre. Vyskytuje sa mnoho medzidruhových interakcií v tejto zložitej komunite s dopadom na lokalizáciu druhov v biofilme a tým aj na jeho štruktúru a funkciu).

Dostupnosť živín je dôležitým určujúcim faktorom pri tvorbe a udržiavaní zubného plaku. Baktérie sú schopné využiť sacharidy, mastné kyseliny, lipidy a aminokyseliny pre biosyntézu a výrobu energie, a pochádzajú z potravy, slín, GCF a ako produkty iných druhov (Kuramitsu a spol., 2007).

Pre mnoho druhov, sacharidový metabolizmus je výhodným zdrojom energie používaný na pohon nespočetného množstva reakcií, vyskytujúcich sa v každej bunke. Častý príjem fermentovateľných sacharidov v strave moderného človeka znamená, že druhy, ako je *Streptococcus mutans*, ktorý je schopný efektívnejšie metabolizovať sacharózu a tak má konkurenčnú výhodu oproti ostatným druhom ústnej mikroflóry. Pomocou toho, že *S. mutans* je veľmi acidotolerantný, je schopný konvertovať sacharózu do molekúl, ktoré umožňujú väzbu na povrch zuba (Gibbons a Nygaard, 1970). Sliny a GCF obsahujú početné proteíny a glykoproteíny: dôležité zdroje uhlíka a dusíka pre mnohé ústne baktérie. Silne proteolytické organizmy, ako je *P. gingivalis* majú konkurenčnú výhodu, kde proteíny sú limitujúcim zdrojom živín, napr. v subgingiválnom plaku.

Jednotlivý druh nemusí priniesť potrebné proteázy alebo glykozidázy na štiepenie týchto zložitých živín (Marsh a Martin, 2012). Aj keď jednotlivé kmene môžu mať rôzne, ešte prekrývajúce vzorce enzymatickej aktivity, ktoré ak sú pestované v tesnom kontakte umožňujú synergickú degradáciu zložitých molekúl. Pri chemostatových štúdiách sa zistilo, že pridaním rôznych druhov ústnych baktérií s novými aktivitami enzýmov do päťčlennej komunity rastúcej na hliene (komplexné glykoproteíny) viedlo ku zvýšeniu počtu životaschopných baktérií. Na základe týchto výsledkov sa predpokladalo, že metabolická spolupráca môže uvoľňovať ďalšie živiny, a preto môže pomôcť v udržaní diverzity ústnej mikroflóry (Marsh a Martin, 2012). Krížové kŕmenie preukázalo, že medzi *Porphyromonas gingivalis* a *Treponema denticola*, rástol aj *P. gingivalis*, ktorý sa presadzuje metabolizovaním sukcinátu tvoreného *T. denticola*, a ten zase bol podporovaný prítomnosťou kyseliny izomaslovej tvorenej *P. gingivalis* (Marsh a Martin, 2012).

Kooperatívny metabolizmus môže byť prospešný aj pre orálne baktérie zmenou podmienok prostredia v prospech niektorých druhov. Bolo preukázané, že *F. nucleatum* a *P. intermedia* sú schopné generovať amoniak fermentáciou glutámovej a asparágovej kyseliny v slinách. V dôsledku toho v oblasti plaku v tesnej blízkosti týchto druhov sa zisťuje nižšia kyslosť a tým poskytujú ochranu pre druhy citlivé na kyslosť, ako je napr. *P. gingivalis*, oproti značnému poklesu pH v prítomnosti baktérií produkujúcich kyselinu mliečnu a ľahko

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

fermentovateľným sacharidom (Takahashi a Nyvad, 2011). Ľudské ústa sú z veľkej časti aeróbnym prostredím a napriek tomu anaeróbne baktérie tvoria významný podiel zubného plaku. Preukázalo sa, že obligátne anaeróbne baktérie môžu byť chránené pred toxickými účinkami kyslíka prítomnosťou kyslík spotrebujúcich druhov, ako *N. subflava*. Metabolické produkty jedného organizmu často vyvíjajú antagonistické účinky na organizmy biofilmu (Kuramitsu a spol., 2007). Napr. kmene *S. sanguinis* môžu produkovať peroxid vodíka, nešpecifickú antimikrobiálnu látku, ktorá má antagonistický účinok na rast *S. mutans* a teda tieto dva druhy málokedy rastú v bezprostrednej vzájomnej blízkosti (Kreth a spol., 2005).

Mnohé druhy orálnych baktérií sú schopné vyvíjať inhibičný účinok na rast susedných druhov výrobou proteínových toxínov, nazvaných bakteriocíny (Kuramitsu a spol., 2007). Terčom bakteriocínov sú často príbuzné organizmy a majú úzke spektrum zabíjania (Marsh a Martin, 2012). Streptokoky tvoria odhadom 60 až 90% z prvých kolonizátorov povrchu zuba a sú jedným z najplodnejších producentov bakteriocínov proti takmer všetkým druhom (Marsh a Martin, 2012). O *Streptococcus mutans* je známe, že produkuje aspoň päť rôznych bakteriocínov (Hale a spol., 2005). Bakteriocíny produkované streptokokmi sa nazývajú mutacíny. Mutacíny produkované *S. mutans* účinne inhibujú rast kmeňov *Streptococcus sanguinis* a preto *S. sanguinis* nie je schopný kolonizovať niky obsadené vysokým počtom *S. mutans* (Kreth a spol., 2005). Mnohé ďalšie druhy orálnych baktérií produkuje bakteriocíny, vrátane neskorých kolonizátorov, ako sú *P. gingivalis*, *Prevotella Intermedia* a *Prevotella nigrescens*. Vysoký stupeň bakteriocínnej aktivity bol zaznamenaný medzi *P. intermedia* a *P. nigrescens* a tiež u oboch druhov proti *P. gingivalis*. Tvorba bakteriocínov sa riadi najmä podmienkami prostredia, vplyvom pH, hustotou buniek a dostupnosťou živín (Kreth a spol., 2005. Kuramitsu a spol., 2007).

Predpokladá sa, že baktérie rastúce v biofilme zubného plaku sú schopné komunikovať medzi sebou prostredníctvom malých signálnych molekúl. Medzibunková komunikácia vnútri biofilmu, alebo *quorum sensing*, boli pripísané regulačným molekulám označovaným ako autoinducéry (AI) (Kuramitsu a spol., 2007). *Quorum sensing* umožňuje populácii biofilmu spoločne sprostredkovať expresiu génov baktérií, produkciu faktorov virulencie, tvorbu antimikrobiálnych látok a tvorbu biofilmu (Marsh a Martin, 2012). Tvorba biofilmu bol výrazne nižší u mutantného kmeňa v porovnaní s divokým typom, čo naznačuje významnú úlohu AI-2 v tvorbe biofilmu. AI-2 sa podieľa na regulácii od sacharózy závislej tvorby biofilmu.

INTER- A INTRA-INDIVIDUÁLNE VARIÁCIE U ORÁLNYCH MIKROBIÓT

Početné štúdie založené na molekulovej mikrobiológii zistili vysoké interindividuálne odchýlky medzi orálnymi mikrobiótami (McBain a spol., 2005; Lazarevic a spol., 2010). Aj keď intraindividuálne dočasné zmeny v ústnej mikroflóre sú v celku nízke ukázalo sa, že slinné

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

mikrobióta zostávajú stabilné po dobu niekoľkých mesiacov a dokonca aj rokov (Lazarevic a spol., 2010).

Súčasná teória naznačuje, že vytvorenie jedinečnej ústnej mikroflóry je formované dvoma odlišnými faktormi (Marsh a Martin, 2012): vrodenými zložkami mikroflóry materského alebo lokálneho prostredia pri narodení a hostiteľským stanovišťom, ktoré zahŕňa vplyvy genotypu t.j. imunitnej odpovede a anatomické štruktúry, ako aj nutričné prostredie (Marsh a Martin, 2012). Ukázalo sa, že existuje jadrový mikrobióm vo všetkých orálnych mikrobiálnych spoločenstvách. Tieto pozorovania sú zaujímavé, pretože mnoho zo súčasných modelov vzniku, štruktúry a funkcie ústneho biofilmu nemusia plne zohľadniť interindividuálne variácie. Napríklad model úspešnosti druhu v zubnom plaku predložený Ritz-om (1967), zostal do dnešného dňa bez zmeny. Navyše priestorovo-časová schéma zubného plaku, ktorú predložili Kolenbrander a spol. (2002) je najvýznamnejšou prezentáciou biofilmu zuba. Zdá sa, že veľké množstvo variácií pochádza z procesu tvorby, čo naznačuje, že štruktúra a funkcia plaku je priamy dôsledok interindividuálnych rozdielov v ústnej mikroflóre, ale tento predpoklad vyžaduje ešte ďalšie štúdium.

PROSPEŠNÉ FUNKCIE ĽUDSKÝCH MIKROBIÓT

Louis Pasteur potvrdil Zárodočnú teóriu vzniku niektorých chorôb viac ako pred 150 rokmi, a úloha ktorú zohrávajú baktérie vo vývoji ľudských ochorení už bola preukázaná jednoznačne (Hooper a spol., 2002). Medzi širokou verejnosťou pojem „baktéria“ často vyvoláva nepríjemné obrazy infekcie a choroby. Avšak, s hostiteľom asociované mikrobiálne spoločenstvá sa oveľa častejšie podieľajú na udržaní zdravia a fyziologického vývoja človeka (Robinson a spol., 2010).

Rezistencia na kolonizáciu, vylúčenie nepôvodných alebo „cudzích“ druhov, ktorou pôvodná mikroflóra konkrétnej ekologickej niky, môže zabrániť uchyteniu (osídleniu) potenciálne patogénnym mikroorganizmom (McFarland, 2000; Stecher a Hardt, 2008). Napr. majú vysoký podiel peroxidu vodíka produkujúcich laktobacilov vo vaginálnej mikroflóre je spojená s ochranou proti bakteriálnej vaginóze v skupinovej štúdii vaginálnych výterov zo žien vyšetrených na pohlavne prenosné choroby. Podobne, produkcia kyseliny mliečnej normálnou mikroflórou kože vytvára slabo kyslé prostredie (pH 5-6), ktoré má schopnosť zabrániť kolonizácii mnohých patogénnych baktérií (Rossi a spol., 2013). Experimenty na bezmikrobiálnych myškách ukázali, že tieto zvieratá sú náchylnejšie ku kolonizácii patogénov, ako tie, ktoré majú intaktnú črevnú mikroflóru (Zeng a spol., 2013). Mechanizmy, ktoré sú základom kolonizačnej rezistencie sú početné a intenzívne študované aj vo vzťahu k dutine ústnej; ktoré zahŕňajú niektoré významné procesy: produkciu inhibičných látok, napr. bakteriocínov, nešpecifických antibakteriálnych látok a kyselín, inhibíciu adhérencie mikroorganizmov a súťaž o živiny (Tojo a spol., 2014).

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Okrem črevného traktu, informácie o ďalších blahodarných účinkoch ľudských mikrobiót sú veľmi zriedkavé (Bik, 2009). Okrem toho o črevnej mikroflóre bolo preukázané, že hrajú úlohu pri trávení živín a syntéze, výrobe energie a vitamínov, pri dozrievaní epitelu, v stimulácii tranzitu črevom a v imunitnej odpovedi (Umu a spol., 2013). Okrem týchto výhod, ktoré ponúka komenzálna mikrobiálna populácia predpokladá sa, že jej vzťah s mikroorganizmami, ktoré by mohli zahŕňať expozíciu s patogénmi vyskytujúcimi sa v ranom veku môže byť prospešná z hľadiska dlhodobého zdravia hostiteľa. Nadmerné hygienické opatrenia a zodpovedajúce zníženie expozície mikroorganizmami zrejme zvyšuje riziko vzniku alergických stavov. Alergie a autoimunitné ochorenia vznikajú následkom neprimeranej a nadmernej imunitnej reakcie na určité podnety. Má sa za to, že znížená expozícia k infekciám v detstve nepriaznivo ovplyvňuje vývoj imunitného systému a tým je možnosť vzniku alergií pravdepodobnejšia. Túto teóriu, najprv predpokladal Strachan v roku 1989 sa nazýva sa „hygienická hypotéza“ (Macpherson a Harris, 2004).

Ústa sú podobné ako iné miesta tela, v ktorých má prirodzená mikroflóra charakteristickú kompozíciu a existujúce z väčšej časti, v harmonickom vzťahu s hostiteľom. Snáď viac ako inde v tele, môže vzťah orálnej mikroflóry sa narušiť a môže dôjsť k vzniku ochorenia. Toto je zvyčajne spojené s:

- významnými zmenami biológie úst z exogénnych zdrojov (napr. antibiotická liečba alebo častý príjem kvasiteľných sacharidov v potrave) alebo z endogénnych zmien, ako sú zmeny integrity následkom ich prirodzenej ochrany liekovou terapiou, ktorá spôsobila prírodnú stabilitu mikroflóry, alebo
- prítomnosťou mikroorganizmov v miestach neobvyklých pre ne; napr. keď orálne baktérie vstúpia do krvného riečišťa po extrakcii zuba alebo iných tráum a sú rozšírené do vzdialených orgánov, kde môžu spôsobiť abscesy alebo endokarditídu.

ÚLOHA NORMÁLNEJ MIKROFLÓRY V CHOROBE

Hoci väčšina interakcií mikróba – hostiteľ sa môže považovať za **komezálnu** (prospešnú pre mikróby, bez toho, aby spôsobili škodu hostiteľovi) alebo **mutualistickú** (prospešný pre mikróba aj hostiteľa), za ideálnych podmienok; aj malá zmena v životnom prostredí a genotyp, môže zvrhnúť predtým symbiotické mikroorganizmy na patogénne (Bik, 2009). Bol použitý model diabetických myší na štúdium zmien mikrobiálnej flóry kože v súvislosti s prostredím a imunitnými odpoveďami v chronických ranách. Po poranení kože je selektívny posun druhov *Firmicutes* často spojený s poruchou hojenia rán (Grice a kol., 2010). V dutine ústnej napríklad zníženie pH prostredia vyvolá posun populácie smerom k streptokokom a laktobacilom pri zubnom kaze (Takahashi a Nyvad, 2011).

Prvky normálnej symbiotickej ľudskej mikroflóry sú zapojené aj do systémových ochorení. Orálne baktérie sú spojené aj s infekčnou endokarditídou. Boli popísané sérotypy

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Streptococcus mutans, ktoré vykazujú nízke hladiny kariogenicity, ale ich vysoká virulencia v krvi vedie ku bakterémii alebo infekčnej endokarditíde. Imunokompromitovaní jedinci sú zdanlivo náchylnejší k patogénnemu pôsobeniu bežných komenzálnych mikróbov. Napr., orálna kandidóza je veľmi rozšírená u pacientov s HIV a okrem toho sa pridružujú aj iné kvasinky, ktoré sa často nachádzajú v ústnej mikroflóre zdravých jedincov.

Baktérie s potenciálom spôsobiť ochorenie sa nazývajú „oportúnne patogény“ a mnohé ústne mikroorganizmy môžu takto pôsobiť. V skutočnosti, väčšina ľudí trpí v určitej dobe svojho života ochorením ústnej dutiny spôsobenej nerovnováhou v zložení rezidentov ústnej mikroflóry. Najčastejšie následky takej nerovnováhy sú zubný kaz a paradentóza. Oba sú veľmi rozšírené vo vyspelých spoločnostiach a majú stúpajúci trend aj v rozvojových krajinách, vyskytujú sa aj iné akútne a chronické infekcie, ale menej často. Zubný kaz je rozpustenie skloviny alebo povrchu koreňa (demineralizácia) pomocou kyselín vytvorených predovšetkým z metabolizmu kvasiteľných sacharidov potravy baktériami kolonizujúcimi povrch zuba (zubný plak). Zubný plak je spájaný s etiológiou ochorenia paradontu, v ktorej hostiteľ vytvára nevhodnú zápalovú reakciu na zvýšené mikrobiálne zaťaženie (v dôsledku nahromadenia plaku) okolo ďasien, čo vedie k poškodeniu podporných tkanív zubov.

Zubný kaz a ochorenia paradontu predstavujú najbežnejšie problémy, pokiaľ ide o mikrobiálnu etiológiu. Tieto ochorenia sa vyskytujú v miestach s existujúcou rozmanitou, prírodne rezidentnou mikroflórou, zatiaľ čo ešte zložitejšie vzťahy mikroorganizmov sa podieľajú na ich patológii. Preto je nevyhnutné, určiť mikrobiálne druhy podieľajúce sa priamo na aktívnom ochorení, ktoré sú prítomné v dôsledku choroby ale aj tie, ktoré sú len nevinné náhodne spolu kolonizujúce. Početné štúdie preukázali, že tieto bežné choroby sú spôsobené posunom v rovnováhe rezidentnej mikroflóry, v ktorej niektoré drobné súčasti zubného plaku sa stávajú rozhodujúce pre lokálne zmeny miestnych podmienok.

Choroby dutiny ústnej sú zriedkavo život ohrozujúce vo vyspelých krajinách, ale pre ich vysokú prevalenciu v bežnej populácii spôsobujú vysoké náklady spojené s ich liečbou. Tieto náklady sa ďalej zvyšujú pri liečbe mnohých akútnych infekcií (prevažne dentoalveolárne abscesy) a chronických stavov, ako aktinomykóza a plesňové infekcie.

Všeobecne platí, že starostlivosť o zuby v rozvojových krajinách sa zlepšuje vďaka lepšej ústnej hygieny, využívanie účinnejších prostriedkov na ústnu hygienu a vyššie povedomie o zubných ochoreniach v bežnej populácii. V dôsledku toho, výskyt zubného kazu klesol u detí v posledných niekoľkých desaťročiach. Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) má za cieľ dosiahnuť 50% 5-ročných detí bez zubného kazu v mnohých krajinách. To má za následok zvýšenie počtu ľudí, ktorí majú všetky zuby v neskoršom veku svojho života. V Európe, 80% seniorov má mnohé vlastné zuby, a priemerný počet zubov, ktoré si uchovávajú títo jedinci sa tiež zvyšuje. Vo Veľkej Británii, 30% dospelých bolo bezzubých v roku 1978, ale v roku 1998 to bolo už len 13%. Avšak, tieto trendy by nemali vyvolať pocit sebauspokojenia – zvýšenie počtu zubov znamená, že citlivé miesta a povrchy, ktorým hrozí zubné ochorenia (vrátane zubného kazu) v priebehu života jedinca sú predmetom vyššej starostlivosti. Deti,

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

ktoré sa v súčasnej dobe tešia dobrej životnej úrovni majú zodpovedajúcu stravu, starostlivosť o chrup a pravidelné návštevy u stomatológov čím sa môžu vyhnúť problémom s paradentózou alebo zubným kazom.

Vyskytujú sa hlboké rozdiely v orálnom zdraví v rámci populácie v dôsledku rozdielov v sociálno-ekonomického statusu (SES), rasy alebo etnického pôvodu. Prieskumy ukázali, že zubný kaz je v Európe nižší ako v ostatnom svete. V Mexicko-americkéj komunite je viac zubného kazu ako v nehispankej čiernej komunite, čo sa ďalej prehlbuje s nízkym SES. Situácia je podobná aj na Slovensku u marginalizovaných populácií. Tak to vyzerá aj pri paradentóze.

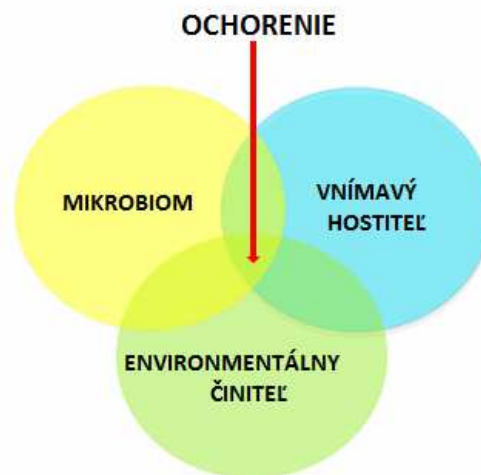
Sú dôkazy o postupnom zvýšení zubného kazu v mestských aglomeráciách v rozvojových krajinách, pravdepodobne v dôsledku zmeny stravovacích návykov. Napr. počet skazených, chýbajúcich a zubov s výplňou u 12-ročných detí v Thajsku sa štvornásobne zvýšil od roku 1960 do roku 2001. U tri štvrtín dospelých v niektorých častiach sveta sa zistilo, že trpia paradentózou. Málo jedincov v týchto komunitách prijíma nápravné opatrenia následkom nedostatočného povedomia o prítomnosti alebo v dôsledku týchto ochorení. Pokroky v prevencii by mohli viesť k podstatnému zníženiu výskytu týchto ochorení s potenciálom obrovských úspor v rozpočtoch pre zdravotnú starostlivosť.

Dentálne ochorenia (vrátane zubného kazu a ochorení parodontu) vyplývajú z komplexnej interakcie spúšťačov životného prostredia (predovšetkým charakter stravy a expozície antimikrobiálnymi látkami), rezidentnej mikroflóry a hostiteľa (obr. 5). Aby sa zistila príčina a biologické mechanizmy týchto ochorení je potrebné pochopiť faktory spôsobujúcich ujmu týchto interakcií. To si vyžaduje vedomosti o princípoch mikrobiálnej ekológie. Vzťahy medzi orálnymi mikroorganizmami a mikroorganizmami a hostiteľom sú v tomto ohľade kľúčové. Zloženie orálnej mikroflóry je vcelku dobre známe, avšak oveľa menej sa vie o vlastnostiach vplyvu prostredia úst na zloženie a metabolizmus rezidentnej mikroflóry v zdraví a chorobe. Orálna mikroflóra je v dynamickej rovnováhe s hostiteľom, a zmeny v kľúčových parametroch, ktoré vplyvajú na rast mikróbov môžu narušiť túto rovnováhu a sťažiť určenie, či mikroflóra bude rozvíjať patogénne alebo symbiotické vzťahy s hostiteľom v danom mieste. Pochopenie týchto vzájomných vzťahov (ústnej mikrobiálnej ekológie) je základná stratégia pre rozvoj vhodnej liečby.

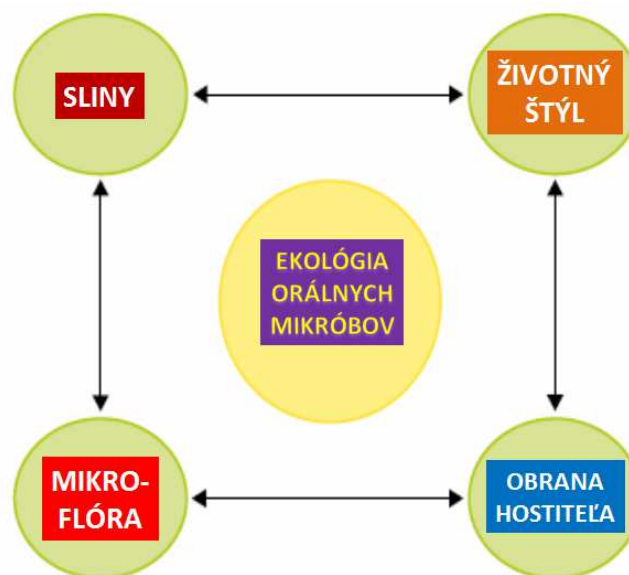
Filozofia týchto textov má za cieľ úplnejšie pochopenie úlohy mikroorganizmov pri dentálnych ochoreniach s posunom od koncepcie odvodených zo štúdií chorôb s jednoduchou a špecifickou (jeden druh) etiológiou na zhodnotenie ekologických princípov. Väčšina ochorení v dutine ústnej má **polymikrobiálnu** (viac druhov) etiológiu. Schopnosť bakteriálnych spoločenstiev spôsobiť ochorenia závisí od výsledku interakcie medzi mikróbovami, a medzi mikroorganizmami a hostiteľom. Je to nevyhnutné kvôli holistickému prístupu pri vysvetlení príspevku orálnej mikroflóry k ochoreniam v dutine ústnej. Činnosť a správanie týchto mikróbov môže byť úzko spojená s inými biologickými systémami v dutine ústnej (obr. 5 a 6). To znamená, že zloženie a metabolizmus baktérií v príslušnom mieste

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

bude ovplyvnená rýchlosťou toku a vlastnosťami slín, životným štýlom jednotlivca (najmä fajčenie, charakter stravy a užívanie liekov) a integritou imunity hostiteľa. Bežné nežiaduce účinky niektorých liekov, napr. zníženie produkcie slín znižuje ich ochranné vlastnosti. Rovnako tak, fajčenie môže narušiť imunitu hostiteľa, čo vedie k zlyhaniu kontroly rastu patogénnych mikroorganizmov. Plesňové infekcie následkom používania zubných protéz a ich antibiotická terapia tiež potláčajú imunitu hostiteľa a odstraňujú konkurenčnú vlastnú mikroflóru. Prijatie takých ekologických zásad môže ľahšie vysvetliť prechod ústnej mikroflóry z komenzálnej na patogénnu vo vzťahu k organizmu hostiteľa a otvoriť nové príležitosti pre prevenciu, liečbu a kontrolu.



Obr. 5 – Vzťahy vedúce k orálnym chorobám. Medzi environmentálne spúšťače patria na cukry bohatá diéta a antibiotická terapia, zatiaľ čo vnímavosť hostiteľa môže spôsobiť znížený tok slín alebo imunosupresiu.



Obr. 6 – Vzťahy vplývajúce na mikrobiálnu ekológiu ústnej dutiny v zdraví a chorobe. Predominantné mikroorganizmy v dutine ústnej môžu byť zmenené tokom slín, životným štýlom (napr. fajčenie a diéta) alebo integritou imunity hostiteľa. Tieto zmeny môžu predisponovať v danom mieste k chorobe. (upravené podľa Marsh a Martin, 2012).

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Miesto, kde môžu mikroorganizmy rásť je **stanovište**. Mikroorganizmy, rastúce v určitom stanovišti tvoria **mikrobiálnu komunitu** zloženú z populácií jednotlivých druhov či menej dobre definovaných skupín (taxónov); alternatívne termíny sú **mikrobióta** alebo **mikroflóra**. Rast mikrobiálnych spoločenstiev na povrchoch sa nazýva **biofilm**. Mikrobiálna komunita v špecifickom stanovišti spolu s biotickým a abiotickým prostredím s ktorým sú tieto organizmy spojené sa nazýva **ekosystém**. **Nika** je definovaná ako *funkcia* organizmu v danom stanovišti. Preto nika nie je fyzikálna lokalizácia organizmu ale jeho *úloha* v rámci komunity. Táto úloha určuje biologické vlastností každej mikrobiálnej populácie. Druhy s rovnakými funkciami v určitom stanovišti súťažia o rovnakú niku, zatiaľ čo koexistencia mnohých druhov na stanovišti spôsobí, že každá populácia má inú úlohu (niku) a tak sa vyhýba konkurencii.

Mnoho termínov bolo použitých na opis charakteristickej zmesi mikroorganizmov spojených s týmto miestom. Patria medzi ne normálne, domáce alebo symbiotické mikroflóry, ale v niektorých prípadoch môže to spôsobiť ťažkosti, ak niektoré z týchto mikroorganizmov sú spojené za určitých podmienok s ochorením. Preto bolo navrhnuté aby druhy charakteristické pre určité stanovište sa nazývali **autochtónnymi** mikroorganizmami. Tieto sa množia a pretrvávajú v danom mieste a prispievajú k metabolizmu mikrobiálnej komunity (ale nemajú patogénny potenciál) a môžu oproti **allochtonným** organizmom, ktoré pochádzajú odinakiaľ a vo všeobecnosti nie sú schopný úspešne kolonizovať ekosystém a môžu ho narušiť. Alternatívne, sa používa termín **rezidentná mikroflóra** zahŕňajúci akékoľvek mikroorganizmy, ktoré sú pravidelne izolované z daného miesta; bez ohľadu či sú schopné spôsobiť ochorenie. Mikroorganizmy schopné vyvolať ochorenie sa označujú ako **patogény**. Ako bolo uvedené vyššie, tie, ktoré spôsobujú ochorenia iba za mimoriadnych okolností, sú popísané ako **oportúnne patogény** a môžu sa odlišovať od **skutočných** alebo **zjavných patogénov**, ktoré sú obvyčajne spájané s chorobou.

Význam orálnych ochorení aj keď je všeobecne vzťahovaný len ku zdraviu dutiny úst, musíme vidieť v širšom poňatí, nakoľko môžu mať vplyv aj na celkový zdravotný stav jedinca. Pri ochoreniach paradontu, napríklad akumuluje sa veľké množstvo gramnegatívnych baktérií okolo koreňov zubov a tvoria faktory virulencie, ako sú lipopolysacharidy (LPS), cytotoxické metabolity a imunoreaktívne molekuly. Hostiteľ na ne reaguje zápalovou odpoveďou a tvorí pre-zápalové cytokíny a prostaglandíny. Tieto bakteriálne a hostiteľské faktory môžu vstúpiť do krvného obehu v dôsledku silného prekrvenia paradontu a predpokladá sa, že ovplyvňujú aj vzdialené miesta v tele.

Nedávne ľudské a zvieracie experimenty a epidemiologické štúdie preukázali, že paradontálne ochorenia predstavujú predtým nerozpoznaný významný rizikový faktor pre predčasné rodené deti s nízkou pôrodnou hmotnosťou, ktoré sú buď priamym dôsledkom predčasných sťahov alebo predčasnej ruptúry membrán, aj keď to nebolo potvrdené bolo u všetkých skupín obyvateľstva. Okrem toho môžu predisponovať zápalové zmeny spojené s mikroorganizmami paradontu ku diabetes mellitus alebo ovplyvniť kontrolu glykémie.

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Navyše, orálne mikroorganizmy, vrátane parodontálnych patogénov, môžu vstúpiť do krvného riečišťa počas prechodnej bakteriémie, kde môžu hrať úlohu v rozvoji a progresii aterosklerózy, čím sa zvyšuje riziko koronárneho srdcového ochorenia.

Orálne zdravie môže ovplyvniť aj celkový zdravotný stav tým, že pôsobí ako zásobáreň oportúnnych patogénov. Ústna hygiena je zlá u pacientov počas intenzívnej starostlivosti, a zubný plak z týchto pacientov obsahuje vysoké počty potenciálnych respiračných patogénov. Aspirácie týchto patogénov (a baktérií zapletených do paradentózy) do dolných dýchacích ciest môže zvýšiť pravdepodobnosť závažnej pľúcnej infekcie, a to najmä u imunokompromitovaných alebo starších ľudí. Príležitostne môže byť detekovaný aj *Helicobacter pylori* v zubnom plaku, tento mikróbo je úzko spojený s chronickou gastritídou a peptickými vredmi a je rizikový faktor pre rakovinu žalúdka. *Helicobacter pylori* nie je normálnym obyvateľom ústnej dutiny, jeho prítomnosť môže byť spojená s gastroezofageálnym refluxom. Jeho intermitentná perzistencia v ústach je spojená s prítomnosťou hlbokých parodontálnych váčkov a to napomáha prenosu tohto mikróba z človeka na človeka. Tento patogén môže byť podržaný v zubnom plaku selektívnou adhérenciou k už pripojeným baktériám, menovite druhmi *Fusobacterium*, alebo procesmi koadherencie alebo koagregácie. Cystická fibróza (CF) je často spojená s pľúcnou infekciou spôsobenou s oportúnnymi patogénmi, ako sú *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia* a stafylokoky. Pacienti s CF majú menej zdravotných problémov so zubami, pravdepodobne v dôsledku ich dlhodobej intenzívnej antibiotickej liečby. Preukázalo sa, že mnohé miesta v ústach u pacientov s CF môžu byť kolonizované s *P. aeruginosa*, čo naznačuje že ústa by mohli slúžiť ako zásobáreň pre tento organizmus. Dôkaz prenosu týchto baktérií dentálnymi inštrumentami zdôrazňuje potrebu efektívnych kontrolných stratégií voči krížovým infekciám (Marsh a Martin, 2012).

ORÁLNE MIKROORGANIZMY A ORÁLNE OCHORENIA

Je dobre známe, že zubný kaz a choroby periodontu sú infekčné ochorenia spojené s rezidentnými mikroorganizmami zubného plaku. Pri terapeutickom rozhodovaní alebo pri vakcinácii, je dôležité poznať, ktoré z týchto mikroorganizmov vyvolávajú ochorenie. Sú tri základné hypotézy o úlohe zubného plaku pri orálnych chorobách:

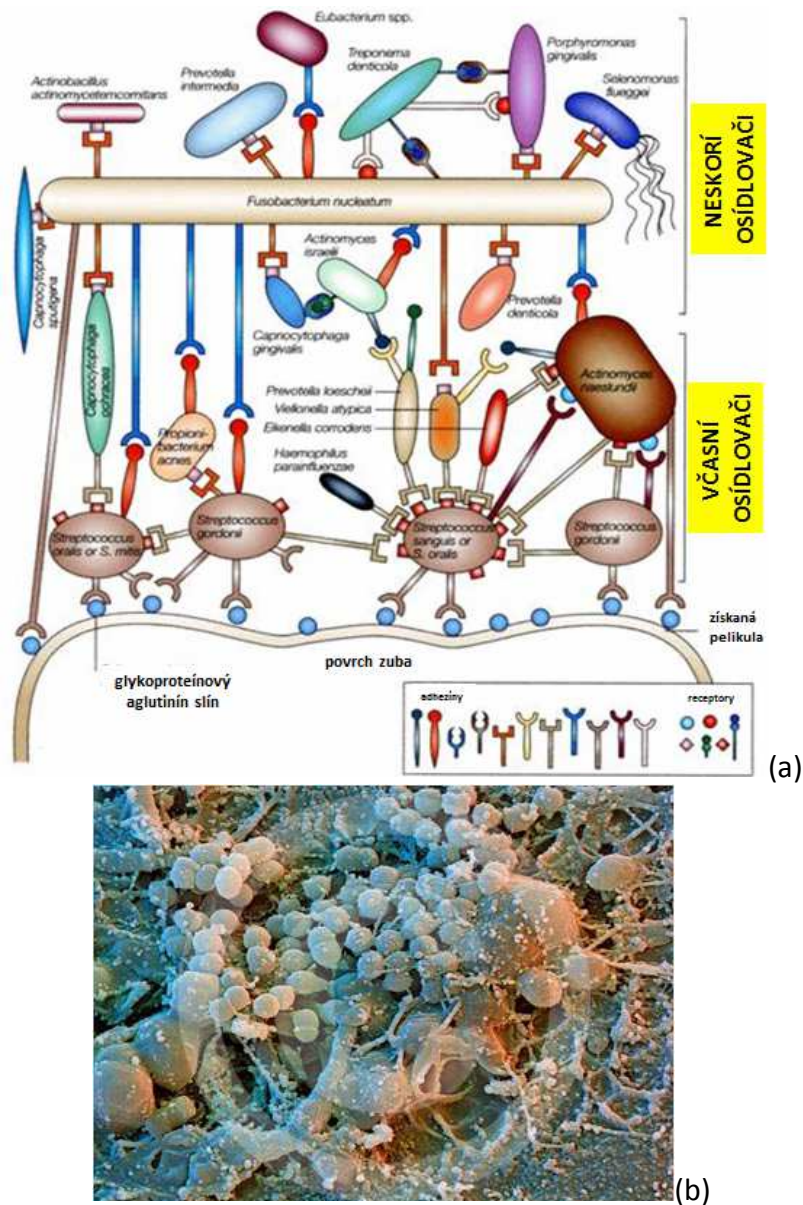
- Teória špecifičnosti predpokladá, že v orálne ochorenia vyvoláva len niekoľko mikroorganizmov, ktoré je možné považovať za špecificky patogénne a sú aj terčom protikariotickej terapie.
- Druhá teória, tzv. nešpecifičnosti, tvrdí, že orálne ochorenia sú výsledkom veľmi zložitých interakcií zubného plaku a jeho mikroflóry a hostiteľa.

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

- Hypotéza ekologického plaku tvrdí, že choroba je výsledkom narušenia rezidentnej mikroflóry plaku a jej rovnováhy posunom ku kariogénnym baktériam. Kariogénne baktérie sú prítomné v plaku aj za fyziologických podmienok, ale v nízkych počtoch.

Zubné povlaky a zubný plak

Pelikula je biofilm na tvrdých zubných tkanivách, skladajúci sa z monomolekulárnej vrstvy kyslých proteínov bohatých na prolín a fosfáty a z glykoproteínov bohatých na sulfáty. Vytvára sa v priebehu sekúnd väzbou negatívne nabitých proteínových skupín na negatívne nabitú sklovinu prostredníctvom iónov Ca^{2+} alebo bázických glykoproteínov z *gl. parotis*, ktoré sa priamo spájajú s povrchovými fosfátovými proteínmi skloviny. Pelikula zastáva ochrannú funkciu proti erózii, precitlivelosti zubných krčkov a má aj regulačnú funkciu pri remineralizácii. Bakteriálne osídlenie pelikuly vedie ku tvorbe plakov (obr. 7).



Obr. 7 – Molekulové interakcie pri tvorbe plaku (a) a rastrovací snímok plaku (b)

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Plak je pevne priliehajúci, štruktúrovaný, vysoko organizovaný zubný povlak, zložený z mikroorganizmov zakotvených v proteínovej a polysacharidovej matrix. Plak sa vyvíja na zuboch fyziologicky. Mikroorganizmy plaku sa odlišujú od mikroorganizmov prítomných v tekutom obsahu orálnej dutiny. Plak sa nachádza obyčajne na krytých a málo dostupných povrchoch, a práve tieto miesta predstavujú riziko pre vznik zubného kazu. Plak je možné vizualizovať pomocou farbív, tzv. revelátorov (Weber, 2006).

Prichytávanie, rast, odstraňovanie a opätovné prichytenie baktérií k povrchu zubov je kontinuálny a dynamický proces. Je tu možné popísať:

- Absorpciu bielkovín a glykoproteínov v slinách na molekuly baktérií ako aj povrch zubov, vytvárajúc tak biofilm (**získaná pelikula**).
- Vzdialenejšie (>50 nm), nešpecifické interakcie povrchu mikrobiálnych buniek so získanou pelikulou prostredníctvom príťažlivých van der Waalsových síl.
- Kratšie (10 – 20 nm) interakcie, pri ktorých interakcia van der Waalsových príťažlivých síl a elektrostatického odpudzovania má za následok slabé priľnutie, tzv. reverzibilnú adhéziu k povrchu zubov.
- Ireverzibilná adhézia môže byť výsledkom intermolekulárnych interakcií medzi adhezívnymi molekulami na povrchu buniek a receptorov v získanej pelikule.
- Sekundárny alebo neskorý kolonizéry (osídlovači) priľnú k primárnym kolonizérom (**koagregácia**) prostredníctvom špecifických medzimolekulových interakcií.
- Následkom delenie adherovaných buniek sa vytvára splývajúci rastúci biofilm.

Environmentálne podmienky na zuboch nie sú uniformné. Vyskytujú sa rozdiely v stupni ochrany pred orálnymi eliminačnými silami a v gradiente mnohých biologických a chemických faktorov, ktoré vplývajú na rast rezidentnej mikrobiológie. Tieto rozdiely sa prejavujú v odlišnom zložení mikrobiálnej komunity, najmä v takých miestach ako ďasnová štrbina, okolité oblasti, hladké povrchy, priehlbiny a štrbiny. Napr. plak fisúr je viac vystavený slinám ako ostatné miesta, oproti tomu tekutina gingiválnej štrbiny viac vplýva na gingiválne štrbiny. V tomto mieste je aj nižší redox potenciál a je kolonizovaná najmä anaeróbnymi organizmami, obzvlášť proteolytickými druhmi, ktorý sa živia fermentáciou proteínov a glykoproteínov prítomných v tekutine gingiválnych štrbín. Štruktúru plaku je možné študovať elektrónovým mikroskopom. V zrelom plaku priamym kontaktom mikroorganizmov so sklovinou, môže viesť k enzymatickému poškodeniu pelikuly.

V biofilme zubného plaku sú mikroorganizmy v tesnej vzájomnej blízkosti a interagujú rôznym spôsobom. Tieto interakcie môžu byť pre určitú populáciu prospešné, alebo môžu byť antagonistické. Mikrobiálne fermentácia v plaku vytvára rôzne faktory, ktoré v odlišnej miere ovplyvňujú rast ďalších druhov mikroorganizmov, buď následkom chýbania esenciálnych živín, alebo produkciou a hromadením toxických koncových produktov fermentácie. Tieto gradienty sú určujúce pre *vertikálne* a *horizontálne usporiadanie* biofilmu

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

plaku. Takáto environmentálna heterogenita umožňuje rôzne požiadavky pre rast mikroorganizmov a zabezpečuje koexistenciu rôznych druhov, ktoré by ťažko preživali v určitom konkrétnom prostredí samé.

Užitočné interakcie spočívajú v cieľnom pôsobení dvoch alebo viacerých druhov na fermentáciu makromolekúl hostiteľa, napr. na mucín (individuálne druhy nie sú schopné katabolizovať takéto molekuly), vytvárajú potravné reťazce (napr. laktát konzumujúce druhy *Veillonella*) a koagregácie. Antagonistické interakcie spočívajú v tvorbe inhibičných substancií, napr. bakteriocínov, H₂O₂ a organických kyselín.

Skorý kolonizéry povrchu zubov sú druhy *Neisseria* a streptokoky. Rast a metabolizmus týchto prvotných druhov určuje lokálne podmienky prostredia (napr. redox potenciál, pH, koagregácia, substrátová dostupnosť), preto schopnosť náročnejších mikroorganizmov na kolonizáciu, ako sú obligátne anaeróby sa vytvoria až v neskoršej fáze plaku, nakoľko vedľa rásť len pri určitom gradiente kyslíka alebo redox potenciálu biofilmu. Ekosystém plaku sa vyvíja za fyziologických podmienok a vytvára kolonizačnú rezistenciu voči určitým druhom mikroorganizmov. Podľa aktuálnych podmienok plaku sa rozvíja aktuálna mikrobiálna homeostáza. Ak sa táto homeostáza „zrúti“ vytvoria sa podmienky pre vznik chorôb. Napr. opakovaný príjem stráviteľných uhľovodíkov v potrave vedie ku zníženiu pH v plaku, čo vedie k inhibícii rastu mnohých druhov potrebných pre dentálne zdravie a pomnožia sa vysoko acidogénne (kyseliny tvoriace) a acidurické (kyslé prostredie znášajúce) druhy, najmä streptokoky a laktobacily, ktoré sú dominantnou mikroflórou zubného kazu. Pri chorobách periodontu sa posúva mikroflóra plaku v prospech proteolytických Gram negatívnych anaeróbov, ktoré môžu poškodzovať tkanivá nepriamo, prostredníctvom zápalovej odpovede hostiteľa (vedľajší účinok) alebo priamo tvorbou proteáz, cytotoxínov a iných faktorov virulencie.

Zubný kameň je mineralizovaný plak. Delenie zubného kameňa podľa lokalizácie uvádzame v tabuľke 2.

Tab. 2 – Delenie zubného kameňa podľa lokalizácie

	SUPRAGINGIVÁLNY KAMEN	SUBGINGIVÁLNY KAMEN
Lokalizácia	Predilekčné miesta: lingválne plochy frontálnych zubov dolnej čeľuste, bukálne plochy molárov hornej čeľuste	Kdekoľvek v parodontálnych chobotoch
Farba	Biela/žltá/hnedá	Tmavo hnedá/čierna
Minerály	Zo sliny Oktakalciumfosfát Hydroxylapatit Brushit (mladý zubný kameň)	Z exsudátu parodontálneho chobotu Whitlockit Hydroxylapatit
Obsah minerálov	Asi 40%	Asi 60%
Vznik	Rýchly	Pomalý
Väzba	Mierna	Veľmi silná

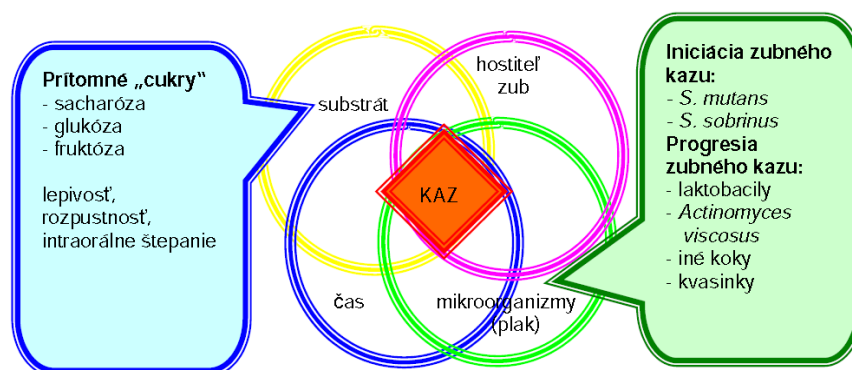
Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Zubný kaz

V zdravej ústnej dutine existuje ekologická rovnováha medzi hostiteľom a mnohými prirodzenými mikroorganizmami (Filoche a spol., 2010). Avšak o baktériách obývajúcich biofilm zubného plaku sa všeobecne predpokladá, že sú zodpovedné za dve najčastejšie ochorenia dutiny ústnej: zubného kazu a paradentóza (He a spol., 2015).

Zubný kaz, sa definuje ako deštrukcia tvrdého tkaniva zubov následkov bakteriálnej fermentácie cukrov, ktorá ovplyvňuje väčšinu jedincov v civilizovaných vyspelých krajinách (Marsh a Martin, 2012). Častá expozícia sacharidmi zvyšuje tvorbu kyslých bakteriálnych fermentačných produktov, najmä kyselinu mliečnu, ktorá demineralizuje sklovinu a vedie ku kavitácii zuba (Filoche a spol., 2010). Je charakterizovaný lokálnou, progresívnou, molekulovou deštrukciou štruktúry zubov, dynamický proces epizodickej de- a remineralizácie multifaktoriálnej etiológie (obr. 8). Vývoj zubného kazu je spojený so vznikom zubného kameňa na hladkom povrchu korunky, v priehlbinkách a štrbinách. Zubný kaz môže postihnúť aj povrch koreňov, ktorý je vystavený orálnemu prostrediu následkom atrofie ďasien. Demineralizácia zubov (sklovina, dentín a cement) je spôsobená organickými kyselinami vytváranými počas bakteriálnej fermentácie uhľovodanov z potravy. Častý príjem uhľovodanov môže viesť k selekcii acidogénnych (schopné tvoriť kyseliny z uhľovodanov) a acidurických (schopných znášať kyseliny) baktérií a k súčasnému zníženiu pH prostredia. Tieto podmienky urýchľujú solubilizáciu minerálov zubov. Demineralizácia začína pri pH okolo 5,0 až 5,5.



obr. 8 – Multifaktoriálna etiológia zubného kazu

Prítomnosť kariogénneho zubného plaku je priamo zodpovedný za vznik a progresiu zubného kazu (Filoche a spol., 2010). Čo predstavuje kariogénny plak je ešte diskutabilné. Jedna z prvých teórií navrhnutá pre etiológiu zubného kazu bola hypotéza špecifického plaku (Loesche, 1976). Táto teória tvrdí, že vznik zubného kazu je priamo spojený s malým počtom špecifických druhov (Marsh a Martin, 2012). Acidogénne a acidotolerantné druhy, napr. *Streptococcus mutans* a homofermentatívne laktobacily boli špecificky spojené so zubným kazom, pretože môžu rýchlo metabolizovať diétne sacharidy na kyseliny, ktoré potom demineralizujú zubnú sklovinu. Hypotéza špecifického plaku bola podporená mnohými štúdiami, ktoré preukázali, že tieto druhy boli medzi obmedzeným počtom baktérií

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

izolovaných vo vyšších počtoch z miest zubného kazu. Niekoľko nedávnych klinických štúdií potvrdzuje súvislosť medzi vysokými počtami *S. mutans* v ústnej mikroflóre jedinca a zvýšeným výskytom zubného kazu (Palmer a spol., 2010). Určití vedci tvrdia, že existujú dôkazy o tom, že hypotéza špecifického plaku je nesprávna alebo neúplná. Patogénne druhy, boli izolované aj z miest vnútra biofilmu plaku, bez známok ochorenia a navyše analýza mikroflóry z niektorých chorých miest ukazuje, že je tu len málo suspektných patogénov (Marsh a Martin, 2012). Kleinberg (2002) naznačuje, že vzťah medzi *S. mutans* a zubným kazom je skôr asociatívny ako kauzatívny. Tvrdí, že odstránenie *S. mutans* z biofilmu zubného plaku by jednoducho umožnilo ostatným acidogénnym druhom prevládnuť, a preto by bol vhodný ekologickejší prístup ku štúdiu a liečby zubného kazu (Kleinberg, 2002).

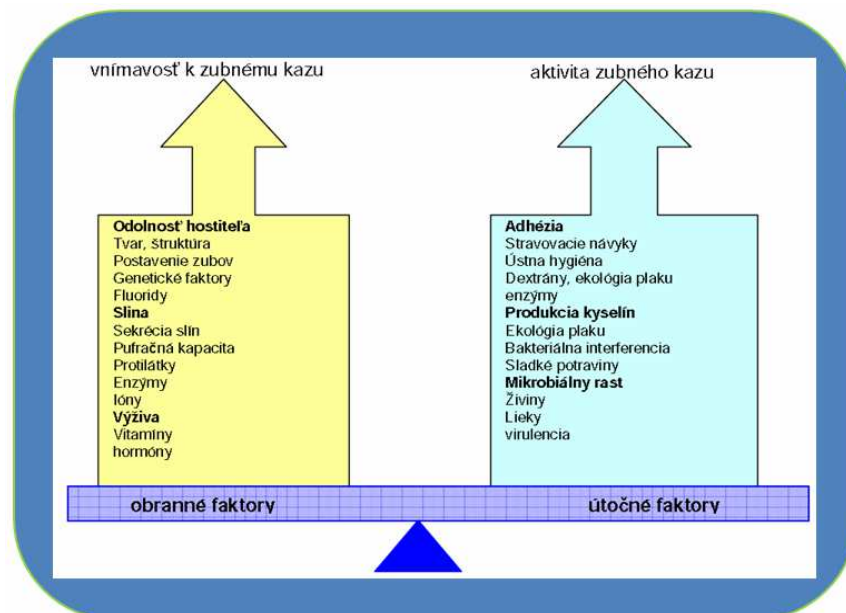
Hypotéza nešpecifickej plaku vznikla v dôsledku týchto pozorovaní a tvrdí, že zubný kaz je výsledkom interakcie medzi heterogénnou skupinou baktérií v zubnom plaku a hostiteľom (Marsh a Martin, 2012). Hoci táto teória nie je úplne odlišná od hypotézy špecifického plaku, naznačuje úlohu pre širšiu skupinu druhov v progresii ochorenia a potenciálu vplyvov zo strany hostiteľa. Hypotéza ekologického plaku navrhuje zjednotiť laboratórne pozorovanie a teóriu naznačujúc, že neexistuje žiadna špecifická etiológia spojená so zubným kazom: akýkoľvek druh so správnymi vlastnosťami môže prispievať k progresii ochorenia v závislosti na selektívnom tlaku zmien v prostredí ústnej dutiny (Marsh a Martin, 2012). V prípade zubného kazu, prítomnosť skvasiteľných cukrov v ústnej dutine pôsobí ako selekčný tlak na acidogénne druhy metabolizovať sacharidov a kde sú acidotolerantné druhy, zvýšia svoje počty na neacidotolerantných druhov. Potenciálny patogény môžu existovať v rámci biofilmu zdravého plaku v nižších počtoch a stanú sa konkurencieschopnými iba vtedy, keď okolité podmienky posunú k nižším pH (Marsh a Martin, 2012). Existencia kariéznych lézií v neprítomnosti patogénov, ako sú *mutans streptokoky* a *laktobacily*, ktoré sa pomnožia v závislosti na produkcii kyselín, aj keď nižším tempom ako ostatné druhy orálnych baktérií za správnych podmienok. Strava s vysokým obsahom fermentovateľných sacharidov vedie k zvýšeniu podielu *mutans streptokokov* a súčasnému poklesu počtu iných *streptokokov* (Marsh a Martin, 2012), najmä *Streptococcus sanguis*. Dnes sa viac uznáva hypotéza ekologického plaku, lebo je často výsledkom zmeny životného prostredia (zvýšené sacharidy, ktorých výsledkom je zníženie pH), predisponujúc lokalizáciu ochorenia, čo je základným kameňom tejto teórie.

Komplexnosť bakteriálnej spoločnosti zubného plaku sťažuje pripísanie zodpovednosti určitej konkrétnej baktérie za vznik zubného kazu. Sú silné dôkazy o kariogénnom účinku *streptokokov* typu *mutans* (najmä *S. mutans* a *S. sobrinus*) a *laktobacilov* v iniciácii a progresii kazu (Loesche, 1986). Tieto dve skupiny baktérií sú schopné rýchlo metabolizovať uhľovodíky na kyseliny, najmä kyselinu mliečnu, a tak znížiť pH prostredia. Zvýšenie počtu *laktobacilov* spočiatku je len malé, ich počet sa zvýši mnohonásobne až keď sú prítomné klinicky diagnostikovatelné lézie. To poukazuje na to, že pri iniciácii kazu zohrávajú primárnu úlohu *streptokoky* a v progresii sa pridružia aj *laktobacily* (Nyvad, 1993). Pri koronálnych kazoch

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

chýbajú streptokoky a laktobacily. Za kaz skloviny tu zodpovedajú *Actinomyces* spp., *S. mitis*, *Veillonella* spp., *Candida* spp., *Propionibacterium* spp., *Eubacterium* spp., *Fusobacterium* spp. a *Capnocytophage* spp. Za kaz koreňov zodpovedá mnoho mikroorganizmov, primárnu úlohu zohráva *Actinomyces* (Bowden, 1990). V súlade s tým Marsh (1994) vyslovil hypotézu „ekologického plaku“. Faktory, ktoré vyvolajú zmeny v zložení mikroflóry plaku sú spúšťače kazu (obr. 9). Pri neutrálnom pH predstavujú laktobacily a streptokoky len malé percento z bakteriálnej populácie. Častá konzumácia ľahko stráviteľných uhľovodanov vedie k výraznému poklesu pH, čo má za následok pokles počtu baktérií citlivých na kyseliny, ako sú *S. sanguis*, *S. oralis* a *S. mitis* a ku zvýšeniu počtov streptokokov a laktobacilov. Táto zmena zloženia je významným predispozičným faktorom vzniku zubného kazu. Streptokoky a laktobacily produkujú veľa kyselín a to zvyšuje demineralizáciu zubov.



Obr. 9 – Etiológia zubného kazu ako porucha ekologickej rovnováhy

K patologickej determinácii kariogénnych baktérií patria:

- Rýchly transport dietetických cukrov: fosfotransferázový systém umožňujúci príjem sacharidov je vysoko afinitný proces. Streptokoky typu mutans majú viac ako jeden cukry transportujúci systém.
- Rýchla glykolýza (acidogenicita): môže viesť ku zníženiu pH pod 4,5 za niekoľko minút.
- Tolerancia, resp. rast pri nízkom pH (aciduricita): bol zaznamenaný rast na neporušenej sklovine (napr. *Streptococcus sanguis* je pri pH 5,5 inhibovaný, ale kariogénne druhy rastu výborne).
- Syntéza extracelulárnych polysacharidov: tieto polyméry podporujú tvorbu matrixu plaku. Glukozyltransferázy konvertujú sacharózu na rozpustné a nerozpustné glukány, ktoré sú potrebné pre adhérenciu baktérií. Aj *Streptococcus mutans* produkuje špecifické ťažko rozpustné polyméry (mutány). Fruktozyltransferázy konvertujú glukózu na

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

fruktány, ktoré sú labilné polyméry a môžu byť využité baktériami plaku ako zdroj energie.

- Syntéza intracelulárnych polysacharidov: tieto slúžia ako zásobná látka pre obdobie kedy nie je prívod dietetických cukrov.

Typickou črtou väčšiny kariogénnych baktérií (streptokoky a laktobacily typu mutans) je ich kombinovaná acidogenicita a aciduricita. Streptokoky typu mutans produkujú extracelulárne polysacharidy, oproti tomu laktobacily ich netvorí.

Z toho vyplývajú základy prevencie zubného kazu spočívajú v:

- utesnení fisúr,
- použítí fluoridov (majú antiglykolytický účinok),
- antimikróbnych látkach (môžu byť aplikované v zubnej paste, ústnej vode a v zubných bielidlách. Môžu inhibovať glykolýzu a tvorbu extracelulárnych polysacharidov),
- použítí umelých sladidiel (zabraňujú tvorbe kyselín, xylitol selektívne inhibuje *Streptococcus mutans*),
- vakcinácii (celobunkové a podjednotkové vakcíny, napr. povrchové proteíny, glukozyltransferázy),
- pasívnou imunizáciou (monoklónové protilátky proti *Streptococcus mutans*).

Najdôležitejšie termíny týkajúce sa zubného kazu uvádzame v tabuľke 4.

Tab. 4 – Terminológia zubného kazu

<i>Iniciálna kazivá lézia</i>	(kaz skloviny) belavé, kriedové zafarbenie a zdrsnenie povrchu skloviny bez kavitácie
<i>Primárny kaz</i>	defekt povrchu zubu, ktorý nemá súvislosť s výplňou
<i>Sekundárny kaz</i>	s istotou diagnostikovateľná lézia na okraji výplne
<i>Recidíva kazu</i>	kaz pod výplňou podmienený ponechaním infikovaného dentínu, detegovateľný skôr röntgenologicky ako klinicky
<i>Výskyt kazu</i>	celkový rozsah zubným kazom vyvolaných škôd na zuboch vrátane následkom kazu stratených zubov u jednej osoby
<i>Prevalencia kazu</i>	priemerný výskyt kazu u skupiny probandov (parametre: vek, pohlavie, sociálne, etnické aspekty a pod.) k určitému dátumu
<i>Prírastok kazu (incidencia)</i>	prírastok nových kazivých lézií na zuboch v rámci daného časového obdobia
<i>Progresia kazu</i>	miera nárastu rozsahu neošetreného zubného kazu počas daného obdobia
<i>Zastavenie kazu</i>	spontánne alebo indukované (okrem zhotovenia výplne) prerušenie progresie kazu
<i>Caries reversal</i>	diagnostikovaný zubný kaz na zube alebo zubnej ploche nie je možné pri následnom vyšetrení zistiť (remineralizácia iniciálneho kazu, metodický omyl)
<i>Redukcia kazu</i>	a) preukázateľné zníženie incidencie kazu v časovo definovanom období b) zníženie progresie kazu
<i>Vnímatosť ku kazu</i>	individuálna vnímatosť osoby, zuba a zubnej plochy ku kazu, opak je odolnosť
<i>Aktivita kazu</i>	výsledok interakcie medzi mikroorganizmami, substrátom a hostiteľom v danom okamihu
<i>Predilekčné miesta pre vznik zubného kazu</i>	sú určené morfológiou zubnej korunky a vzájomným postavením zubov: fisúry, jamky, lézie hladkých povrchov, obnažené plochy koreňov a okraje výplní.

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

CHOROBY PARADONTU

Už v roku 1965 bol preukázaný priamy vzťah medzi hromadením zubného plaku a paradentózou (Loe a spol., 1965). Tkanivá vystavené bakteriálnemu plaku vykazovali významné zápalové reakcie, ktoré boli zmiernené a odstránené zlepšením ústnej hygieny (Loe a spol., 1965). Zápal ďasien sa v súčasnosti považuje za dôsledok nedostatočnej ústnej hygieny. Na rozdiel od zápalovej reakcie spojenej so zubným kazom založeným na kyslom prostredí, reakcia pri zápale ďasien vedie k posunu pH v zásaditom smere a prúdenie GCF sa zvyšuje (Marsh a Martin, 2012). Tento stav je charakterizovaný opuchnutými, červenými ďasnami, sprevádzaná krvácaním a zápachom z úst (Wilson, 2005). Rozvoj tohto stavu do paradentózy, kde zápal spôsobuje poškodenie nosných konštrukcií zubov veľmi často postihuje 70 až 80% dospeléj populácie. To je tiež hlavnou príčinou straty zubov u ľudí nad 25 rokov (Wilson, 2005). Procesy paradentózy sa vyznačujú zničením periodontálnych väzov, následne sa vytvárajú paradontálne vččky a dochádza k úbytku alveolárnej kosti (Marsh a Martin, 2012).

Etiológia zápalu ďasien a paradentózy bola spojená s výskytom vysokého počtu obligátne anaeróbných gramnegatívnych baktérií vrátane *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Treponema* a *Prevotella* v komunite zrelého zubného plaku (Ledder a spol., 2007). Nepreukázala sa súvislosť medzi mikrobiálnou zložitosťou alebo konkrétnymi druhmi alebo skupinami druhov a paradentózou s vysokou úrovňou intra-individuálnej variability. Multiplexná PCR ukazuje, že prítomnosť *A. actinomycetemcomitans* významne súvisí s chorobou a prítomnosť *Treponema socranskii* a *Pseudomonas sp.* boli prediktory choroby (Ledder a spol., 2007).

Hypotéza ekologického plaku pre paradentózy naznačuje, že akumulácia plaku okolo ďasien iniciuje zápalovú odpoveď, ktorá je spojená so zvýšeným tokom GCF, ktorá poskytuje proteínové živiny pre mnohé zvýhodnené obligátne anaeróbne orálne druhy (Marsh a Martin, 2012). Následná poškodenie tkanív je prisudzované štrukturálnym a sekrétovaným zložkám zmenenej bakteriálnej mikroflóry spôsobujú priame poškodenie sliznice v dutine ústnej alebo moduláciu imunitnej odpovede hostiteľa (Marsh a Martin, 2012). Do tohto procesu sú zahrnuté bakteriálne lipopolysacharidy (LPS), fimbrie, proteázy a toxíny. Stimulácia imunitného systému hostiteľa je spojená s transmembránovými Toll-like receptory (TLR), v spojení s rozpustnými a membránovými proteínmi viažucimi CD14 a následnej produkcie cytokínov, ktoré narúšajú rovnováhu medzi tkanivovými degradujúcimi metaloproteinázami (MMP) a inhibítormi tkanivových metaloproteináz (TIMP). Jedincová náchylnosť k paradentózy predpokladá silnú genetickú predispozíciu (Ledder a spol., 2007).

Manažment bežných dentálnych ochorení. Kontrola plaku je kľúčom prevencie zubného kazu aj paradentózy. Mechanická kontrola plaku je dôležitá časť redukcie hmoty plaku avšak nestačí na úplne odstránenie plaku, najmä z ťažko prístupných a stagnujúcich miest. Preto je použitie dodatočných opatrení a použitie produktov orálnej hygieny nevyhnutné v prevencii aj liečbe dentálnych ochorení (Busscher a spol., 2007).

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

S ohľadom na klinický význam zubného kazu nie je divu, že veľké úsilie bolo zamerané na objasnenie najúčinnějších spôsobov prevencie a liečby tohto stavu. Častý príjem sacharidov a s tým spojený pokles pH v biofilme zubu zvyšujú riziko vzniku zubného kazu (Marsh a Martin, 2012). Logický postup na zníženie výskytu zubného kazu je vyhnúť sa sladkostiam a nahradiť cukor s náhradami, ako je sacharín (Marsh a Martin, 2012). Ochranné účinky slín spočívajú v tom, že: obsahujú antimikrobiálne faktory, môžu zvýšiť lokálne pH a môžu hrať úlohu v remineralizácii skloviny. Tvorba slín môže byť stimulovaná žuvaním žuvačky bez cukru, čo je považované za strategickú intervenciu pre prevenciu zubného kazu (Marsh a Martin, 2012).

Fluór je obsiahnutý v dentifikách, ústnej vode a dokonca aj vo vodovodnej vode po mnohé roky na prevenciu zubného kazu. Všeobecne sa uznávalo, že fluór sa začleňuje do zubnej skloviny po erupcii a inhibuje demineralizáciu a súčasne zvyšuje remineralizáciu skloviny (Marsh a Martin, 2012). Antimikrobiálna úloha fluóru je známa a vie sa, že môže difundovať do bakteriálnych buniek vo forme fluorovodíku. Akonáhle je vo vnútri kyselina disociuje a fluoridové ióny zasahujú do metabolizmu sacharidov. Rýchlosť produkcie kyseliny bola znížená nízkymi hladinami fluoridov a na kyseliny citlivé druhy perzistujú vo vyšších počtoch ako za neprítomnosti fluoridov. Otázne je ale, či je fluorid prítomný na dostatočne vysokej úrovni na to aby sa vyvinul tento účinok aj *in vivo*.

Ústna hygiena a dostatočná kontrola plaku sú vo všeobecnosti považované za kľúčové pre udržanie zdravia parodontu a tradičné metódy prevencie zubných ochorení boli zamerané na mechanické alebo nešpecifické odstraňovanie plaku (Allaker a Douglas, 2009). Iný prístup predložili na prevenciu ochorení parodontu, a to zvýšenie redox potenciálu parodontálnych váčkov, čím sa prostredie zhoršuje pre obligátne anaeróby (Marsh a Martin, 2012).

Pod pojmom choroby parodontu máme na mysli zápalové patologické stavy tkanív v ktorých sú vsadené zuby – **závesný aparát zubov**. Choroby parodontu môžeme zaradiť do dvoch kategórií:

- **gingivitídy a**
- **periodontitídy.**

Každá z nich môže byť ďalej delená v závislosti od veku pacienta (prepubertálna, juvenilná, dospelá), aktivity ochorenia, závažnosti a priebehu (perakútna, akútna, chronická), ako aj rozloženia lézií (lokalizované alebo generalizované).

Gingivitis je definované ako zápal tkaniva ďasien, ktoré nepostihuje ukotvenie zubov. Gingivitis je spojený s akumuláciou plaku okolo okraja ďasien. Ak sa orálna hygiena napraví, tkanivo ďasien sa rýchlo uzdraví, čo potvrdzuje, že za zápal ďasien zodpovedá dentálny plak a nie naopak, že dentálny plak je následok choroby. V zdravej gingiválnej štrbine je počet mikroorganizmov nízky a dominujú fakultatívne anaeróbne Gram pozitívne baktérie. Počet

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

baktérií v plaku pri gingivitíde stúpa 10 až 20 násobne. Ešte stále dominujú Gram pozitívne baktérie, ale už stúpa podiel obligátne anaeróbných Gram negatívnych baktérií, zároveň stúpa aj diverzita mikroorganizmov (asi 150 druhov). V zložení mikrobiálnej populácii je rozdiel u jednotlivcov. Medzi predominantné druhy patria *Peptostreptococcus gingivalis*, *P.intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Actinomyces actinomycetemcomitans*, *Wolinella recta*, *E. corrodens*, *Treponema denticola* a *P. micros*.

Periodontitis predstavuje deštrukciu spojovacieho tkaniva, ukotvenia a priľahlých alveolárnych kostí. Pri periodontitíde ďasnové štrbiny sa prehĺbia do formy periodontálneho vaku následkom apikálnej migrácie spojovacieho epitelu pozdĺž koreňového povrchu. Indukcia a progresia deštrukcie periodontálneho tkaniva je komplexný proces zahrňujúci akumuláciu plaku, uvoľnenie bakteriálnych substancií a zápalovú odpoveď hostiteľa (Genco, 1992). Aj keď baktérie zriedkavo invadujú tkanivo, môžu uvoľňovať rôzne substancie penetrujúce do gingivy a vyvolávajúce priamu deštrukciu tkaniva, účinkom enzýmov a endotoxínov, alebo nepriamo, indukciou zápalu. Zápalová odpoveď hostiteľa proti bakteriálnym antigénom chráni aj lieči periodontálne choroby (Costalonga a Herzberg, 2014). Následkom poškodenia tkanív sa môžu uvoľniť lyzozomálne enzýmy z fagocytov a spolu s cytokínmi stimulovať spojovacie tkanivo k uvoľňovaniu metaloproteináz (vrátane kolagenáz) alebo cytokínov, ktoré aktivujú resorpciu kostí. Medzi baktérie pravidelne izolované z periodontálnych váčkov, patria najmä Gram negatívne paličky ako *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Capnocytopha* a *Wolinella*.

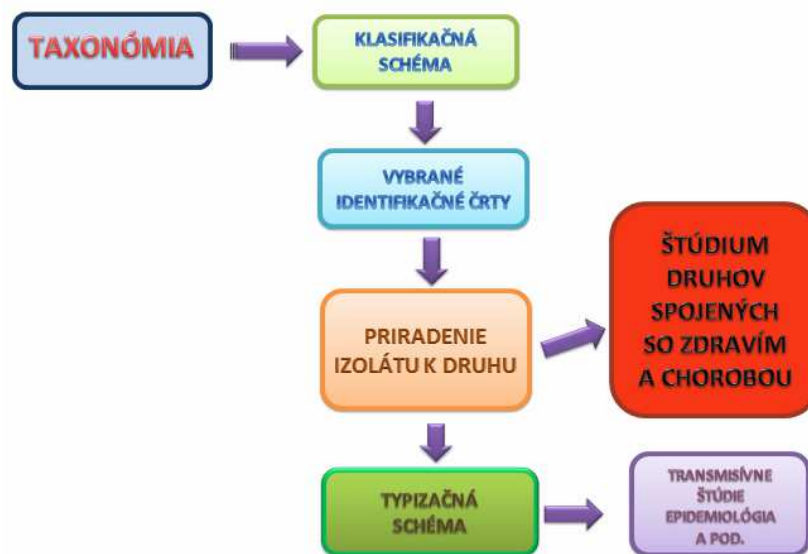
ZÁVEREČNÉ POZNÁMKY

Rezidentná orálna mikróflóra je rôznorodá a skladá sa zo širokej škály vírusov, mykoplaziem, baktérií, kvasiniek a dokonca aj prvokov. Táto rozmanitosť je spôsobená tým, že ústna dutina sa skladá z niekoľkých rôznych stanovišť zásobovaných rôznymi živinami. Okrem toho, v biofilmoch, ako sú zubné plaky, obrovský ekologický význam majú parametre, ako sú tenzia kyslíka a pH, ktoré vytvárajú podmienky vhodné pre rast a prežívanie mikroorganizmov so širokým spektrom požiadaviek (Takahashi, 2015). Za týchto podmienok, žiadna bakteriálna populácia nemá nijakú zvláštnu výhodu, a preto početné druhy tu koexistujú. Plak funguje ako skutočná mikrobiálna komunita a boli popísané v ňom početné príklady synergických metabolických interakcií. To umožňuje, aby určité náročné baktérie preživali a rástli ako súčasť zmiešanej kultúry za podmienok, ktoré by neboli schopné tolerovať v prípade, ak by boli v čistej kultúre v homogénnejšom prostredí.

Skôr, ako o mikrobiálnej komunite uvažovať v určitej lokalite dutiny ústnej, je potrebné popísať typy a vlastnosti organizmov nájdené bežne v zdraví a počas choroby. Najprv ale je potrebné mať jasné predstavy o princípoch klasifikácie a identifikácie mikrobov a rozumieť zásadám metódam práce s orálnymi mikroorganizmami.

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Klasifikácia je zoradenie organizmov do skupín (taxónov) na základe ich podobností a odlišností. Na rozdiel od toho identifikácia je proces určovania nového izolátu do určitého taxónu. Cieľom klasifikácie je definovať tieto taxóny na úrovni rodov alebo druhov. Existuje tradičný hierarchický systém pre pomenovanie baktérií tak, že skupiny úzko súvisiacich organizmov tvoria druh a príbuzné druhy sú zaradené do rodu atď. (obr. 9), druhy sú označené latinsky alebo latinizovaným dvojčlenom (napr. *Streptococcus mutans*, rod je *Streptococcus* a druh je *mutans*). Ak izolát nepatrí do žiadneho existujúceho taxónu, potom je možné navrhnúť nový druh. Pomenovanie baktérií tak, aby odrážali túto klasifikáciu (nomenklatúru) riadia medzinárodné komisie.



Obr. 9 – Schéma klasifikácie, identifikácie a typizácie bakteriálnych kmeňov. (upravené podľa Marsh a Martin, 2012)

Akonáhle bol organizmus zaradený do druhu, môže sa určiť ako sub-typ konkrétneho kmeňa, čo môže byť cenné pri epidemiologických štúdiách skúmajúcich prenos kmeňov medzi jednotlivcami. Vzájomné vzťahy medzi týmito prístupmi (klasifikácia, identifikácia, typizácia kmeňa) sú znázornené na obr. 9. Klasifikácia, nomenklatúra a identifikácia mikroorganizmov je označovaná ako **taxonómia**, aj keď niekedy klasifikačné termíny a taxonómia sú používané zameniteľne.

Prostredie zdravej dutiny ústnej podporuje rast širokého spektra mikroorganizmov, vrátane baktérií, kvasiniek, mykoplaziem, vírusov a dokonca aj prvokov. Baktérie sú prevládajúcimi organizmami rezidentnej ústnej mikroflóry. prehľad hlavných rodov je uvedený v tab. 5. Mnohé z týchto baktérií sú náročné v ich požiadavkách na výživu, zatiaľ čo iné sú striktné anaeróbne a silne citlivé na kyslík. Niektoré z nich výborne rastú len v zmiešaných kultúrach. Niektoré organizmy rastú veľmi pomaly a sú relatívne nereaktívne v testoch používaných pri bežných identifikačných systémoch, a preto boli navrhnuté nové prístupy pri ich identifikácii, napríklad pomocou analýz zložiek ich bunkovej steny alebo proteínových profilov (proteómu) celých buniek. V súčasnej dobe, len asi 50% organizmov

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

plaku môže byť izolovaných v čistej kultúre v laboratóriu. Molekulové prístupy, založené na porovnávaní génových sekvencií pomocou 16S rRNA, spôsobili revolúciu v našom chápaní komplexnosti rezidentnej ústnej mikroflóry, a vyriešili mnohé problémy okolo klasifikácie viacerých skupín ústnych baktérií. Pomocou týchto prístupov sa identifikovali mnohé nové rody a druhy, vrátane aktuálne nekultivovateľných kmeňov. Použitie špecifických oligonukleotidových sond viedlo k rýchlej (a relatívne jednoduchým) technikám na detekciu, vizualizáciu a identifikáciu aj obzvlášť náročných orálnych mikróbov v klinických vzorkách. Výsledné výhody v klasifikácii a detekcii zvyšujú pravdepodobnosť nájdania užších spojení medzi konkrétnymi druhmi alebo taxónmi s lokalitami ústnej dutiny v zdraví a v chorobe.

Tab. 5 – Prehľad rodov baktérií v ústnej dutine

GRAM POZITIVNE		GRAM NEGATIVNE	
Koky	Paľičky	Koky	Paľičky
Abiotrophia	Actinobaculum	Anaeroglobus	Acinetobacter
Enterococcus	Actinomyces	Bordetella	Actinobacillus
Finegoldia	Alloscardovia	Megasphaera	Aggregatibacter
Gemella	Arcanobacterium	Moraxella	Campylobacter
Granulicatella	Arthrobacter	Neisseria	Cantonella
Kocuria	Atopobium	Veillonella	Capnocytophaga
Leuconostoc	Bacillus		Centipeda
Micrococcus	Bifidobacterium		Desulfobulbus
Peptostreptococcus	Bulleidia		Desulfomicrobium
Streptococcus	Clostridium		Desulfovibrio
Staphylococcus	Corynebacterium		Dialister
	Cryptobacterium		Eikenella
	Curtobacterium		Enterobacter
	Eubacterium		Erwinia
	Filifactor		Flavobacterium
	Lactobacillus		Fusobacterium
	Mogibacterium		Haemophilus
	Olsenella		Helicobacter
	Parascardovia		Johnsonii
	Propionibacterium		Kingella
	Pseudoramibacter		Leptotrichia
	Rothia (Stomatococcus)		Methanobrevibacter
	Scardovia		Pantoea
	Shuttleworthia		Porphyromonas
	Slackia		Prevotella
	Solobacterium		Proteus
			Pseudomonas
			Salmonella
			Selenomonas
			Serratia
			Simonsiella
			Spirochaeta
			Stenotrophomonas
			Tannerella
			Treponema
			Wolinella

Je mnoho zatiaľ neidentifikovaných, nekultivovateľných rodov
Z úst sú často izolované aj zástupcovia: rodu Mycoplasma. Plesne a kvasinky: Aspergillus, Geotrichium, Mucor, Candida, Rhodotorulla, Saccharomyces. Prvoky: Plasmodium, Entamoeba, Cryptosporidium, Trichomonas. Vírusy: vírus hepatitídy C a G, HSV-1, cytomegalovírus, HPV typ 2, 4, 6, 11, HIV, Coxsackie vírus A2, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 16 a rôzne bakteriofágy.

Veľká rôznorodosť ústnej mikroflóry odráža širokú škálu endogénnych živín dostupných v ústnej dutine, rozmanitosť biotopov pre kolonizáciu a príležitosti poskytované biofilmami, ako plakov na prežitie na povrchoch v dutine úst. Napriek tejto rôznorodosti, mnohé mikroorganizmy bežne izolované zo susedných ekosystémov, ako sú koža a črevá, sa

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

nenachádzajú v ústach, čo zdôrazňuje jedinečné a selektívne vlastnosti úst pre mikrobiálne osídlenie.

Akvízia mikrobiálneho osídlenia úst závisí na vniknutí mikroorganizmov do miest potenciálnej kolonizácie. Spočiatku v ústach je to pasívna kolonizácia od matky, od ďalších osôb v blízkosti dieťa prostredníctvom slín a z požitého mlieka alebo vody. Genotypy baktérií najdených u detí boli rovnaké zo 71% ako u ich matiek (**vertikálny prenos**) ale aj od ostatných členov rodiny (**horizontálny prenos**). Aj keď sú ústa sterilné pri narodení, akvizícia rezidentnej ústnej mikroflóry začína už v prvých hodinách života. Biologické podmienky v ústach sú vysoko selektívne pre jednotlivé kolonizujúce mikroorganizmy. Len málo druhov organizmov nachádzajúcich sa v ústach dospelých je schopných úspešne kolonizovať. Akvizícia rezidentnej mikroflóry sleduje vzor ekologickej sukcesie: relatívne málo organizmov (pionierske druhy) je schopných kolonizovať, ale ich prítomnosť umožňuje uchytenie sa ďalších druhov. Tento proces nakoniec vedie k vyvrcholeniu komunity s vysokou druhovou rozmanitosťou. Veľa druhov pochádza od matky prenosom prostredníctvom slín, aj keď štúdie klonálnej diverzity kmeňov naznačujú, že niektoré organizmy môžu byť odvodené aj od iných zdrojov. Rozvoj klimaxu v ústach môže zahŕňať aj **alogénne** (nie-mikrobiálne ovplyvňovanie) a **autogénne** (mikrobiálne ovplyvňovanie) dopady. Zloženie rezidentnej mikroflóry sa líši na rôznych miestach a v oblastiach úst, pričom každá z nich má relatívne charakteristickú mikrobiálnu komunitu. Streptokoky skupiny mutans a *S. sanguinis* preferujú tvrdé povrchy na kolonizáciu, zatiaľ čo druhy, ako *S. salivarius* kolonizujú prevažne slizničné povrchy dutiny ústnej. Jazyk má najvyšší počet mikroorganizmov na plochu orálneho povrchu slizníc a môže pôsobiť ako rezervoár pre niektoré gramnegatívne anaeróby, ktoré majú na svedomí ochorenia paradontu a zápach z úst.

Distribúcia mikroorganizmov súvisí s ich schopnosťou adherovať na určité povrchy, rovnako ako aj na ich nutričné a požiadavky, určité mechanizmy zo strany životného prostredia (pH a redoxný potenciál). Mnoho druhov baktérií sa drží na povrchoch pomocou špecifických molekulových interakcií medzi adhezínmi na ich bunkovom povrchu a receptormi buniek hostiteľa. Tieto receptory sa nachádzajú v získaných pelikulách a hlienovej vrstve na sklovine a povrchu slizníc. Bakteriálne adhezíny môžu byť konštrukčne zložité, môžu mať viac väzbových miest. Aby rezidentná mikroflóra sa bola schopná vyrovnáť s kolísaním nutričných podmienok v ústach je biochemicky flexibilná. Primárnym zdrojom živín je endogénna dodávka hostiteľských proteínov a glykoproteínov slinami a GCF. Navyše sú tu sacharidy (a určité proteíny) z potravy. Potenciálne kariogénne baktérie uplatňujú špecifické molekulové stratégie, ktoré im umožňujú tolerovať nízke pH.

Metabolizmus dusíkatých látok zahŕňa širokú škálu exo- a endopeptidáz. Metabolizmus dusíka môže viesť k základnej produkcii, ktorá pomáha regulovať pH životného prostredia. Katabolizmus komplexných molekúl hostiteľa vyžaduje baktérie s komplementárnymi vzormi aktivít enzýmov pre zaistené ich úplného rozloženia. Obligátne anaeróbne baktérie sa vyskytujú bežne na mnohých miestach v ústach. Tieto baktérie prežívajú expozíciu kyslíkom

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

interakciou s druhmi odoberajúcimi kyslík, a vlastnením špecifických enzýmových systémov na viazaniu kyslíka a jeho toxických radikálov. **Zápach z úst** vzniká tvorbou zvýšenej hladiny zapáchajúcich látok (ako sú napr. sírovodík a metylmerkaptán) proteolytickými anaeróbnymi baktériami. Mnohé z týchto organizmov, sú lokalizované na jazyku. Metabolizmus orálnych mikroorganizmov je citlivý na mnohé inhibítory používané v orálnej hygiéne.

Zubný plak je všeobecný termín pre komplexnú mikrobiálnu komunitu, ktorá sa vyvíja na povrchu zuba, usadená v matrici polymérov bakteriálneho a slinného pôvodu. Kalcifikovaný plak je označovaný ako zubný kameň. Prítomnosť plaku v ústach môže byť ľahko vizualizovaný prepláchnutím roztokom s erytrozínom. Väčšina plaku je spojená s chránenými a stagnujúcimi oblasťami povrchu zubov, napr. trhlín, aproximálnej oblasti medzi zubmi a v štrbinách ďasní (pozri obr. 4). Plak sa prirodzene vyskytuje na povrchu zuba, a je súčasťou obrany hostiteľa na vylúčenie exogénnych (a často patogénnych) druhov (kolonizačná rezistencia). Občas sa plaky môžu hromadiť nad rámec zdravej ústnej dutiny, a to môže viesť k zvýšeniu predispozície k ochoreniam ústnej dutiny. Zubný plak je príkladom biofilmu a mikrobiálnej komunity.

Zubný plak je mikrobiálny biofilm s vysokou druhovou diverzitou nachádzajúci sa na povrchu zubov, vložený do polymérov slinného a bakteriálneho pôvodu. Vývoj zubného plaku je príklad autogénnej postupnosti, pričom mikrobiálne faktory ovplyvňujú vzor vývoja mikroflóry. Tvorbu zubného plaku možno rozdeliť ľubovoľne do rôznych fáz. Patrí sem adsorpcia hostiteľských a bakteriálnych molekúl pre tvorbu získanej pelikuly, pasívny transport baktérií na pelikulou potiahnutý povrch zuba, reverzibilná fáza zahŕňajúce van der Waalsove príťažlivé sily a elektrostatické odpudzovanie a ireverzibilná fáza zahŕňujúce špecifické medzimolekulárne interakcie medzi adhezínmi baktérií a receptormi hostiteľa, koadhéziu baktérií už k pripojeným organizmom, syntézu matrixu a delenie buniek, ktoré vedú k plynulému rastu a tvorbe biofilmu. Niektoré organizmy v plaku produkujú signálne molekuly, ktoré umožňujú bunkám vzájomne komunikovať a koordinovať svoju činnosť. Vlastnosti baktérií v biofilme sú odlišné od planktonicky rastúcich buniek. Génová expresia môže byť zmenená u baktérií na povrchu, zatiaľ čo bunky v biofilme sú tolerantnejšie voči antimikrobiálnym látkam.

Pionierske druhy tvoriace biofilm plaku patria medzi členov mitis skupiny streptokokov, druhy *Haemophilus* a *Neisseria*, mnoho zo streptokokov tvorí proteázu IgA. Zloženie konečnej komunity plaku vykazuje zmeny v rôznych miestach na povrchu zubov v dôsledku rozdielov v ich biologických vlastnostiach. Mikrobiálna komunita fisúr je menej diverzná ako aproximálnych miest a v gingiválnej štrbine. Obligátne anaeróbne baktérie tvoria podstatnú časť mikroflóry v posledných dvoch lokalitách, takže sú potrebné osobitné opatrenia pre odber a spracovanie zubného povlaku z týchto oblastí, aby sa zachovala životaschopnosť rezidentných mikroorganizmov.

Rovnováha mikroflóry v danom mieste zostáva dostatočne stabilná, pokiaľ nie je vážne narušená environmentálnym stresom. Takáto stabilná mikroflóra je schopná zabrániť aj

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

kolonizácii exogénnych druhov. Táto stabilita (nazývané mikrobiálna homeostáza) je sčasti spôsobená dynamickou rovnováhou mikrobiálnych interakcií, vrátane synergizmu a antagonizmu. Synergické interakcie zahŕňajú koadhéziu, vývoj potravinových reťazcov a metabolickú spoluprácu pri rozklade komplexov polymérov hostiteľa a baktérií. Antagonizmus môže byť spôsobený tvorbou bakteriocínov, peroxidu vodíka, organických kyselín a nízkym pH. Priestorová heterogenita biofilmu napr. plaku môže viesť ku koexistencii druhov, ktoré by nebolo realizovateľné v homogénnom prostredí.

Zubný plak funguje ako skutočná mikrobiálna komunita. Interakcie druhov, ktoré ju tvoria má za následok metabolickú účinnosť a rozmanitosť, ktorá je väčšia než len akýsi súčet schopností jednotlivých druhov, ktoré ho tvoria. Zubný plak nesmie byť nikdy považovaný za konštantný, statické ekosystému: ale je potrebné zdôrazniť jeho dynamický charakter.

Preventívne a liečebné režimy kazu a ochorení parodontu by boli presnejšie, keby mohli byť identifikované konkrétne mikroorganizmy, ktoré spôsobujú ochorenie. Historicky, pre všetky mikróby platia tzv. Kochové postuláty:

1. Mikrób má byť nájdený vo všetkých prípadoch ochorenia s distribúciou zodpovedajúcou pozorovaným léziám.
2. Mikrób by mal byť pestovateľný na laboratórnom médiu po dobu niekoľkých subkultúr.
3. Čistá subkultura by mala vyvolať chorobu u náchylného zvierťa.

Ďalší nasledovný postulát bol od tej doby doplnený:

4. Vysoký titer protilátok proti mikróbov by mala byť detekovateľná počas infekcie; ktorá môže poskytovať ochranu voči následnej reinfekcii.

Napriek rozsiahlemu odberu vzoriek plaku v zdraví aj chorobe, spolu s údajmi z infekčných štúdií s použitím bezmikrobiálnych zvierat, nebol zistený žiadny mikrób, ktorý plne spĺňa Kochové postuláty pre choroby sprostredkované plakom. Skupiny organizmov spojené so zubným kazom a periodontálnymi ochoreniami môžu byť často detekované na zdravých miestach, aj keď v nižšom množstve.

Preto boli navrhnuté iné verzie Kochových postuláty vysvetľujúcich úlohu jednotlivých baktérií plaku pri vzniku zubného kazu alebo ochorenia parodontu:

1. Mikrób by mal byť prítomný v dostatočnom množstve, aby spôsobil ochorenie.
2. Mikrób by mal vyvolať tvorbu vysokej hladiny špecifických protilátok.
3. Mikrób by mal tvoriť relevantné faktory virulencie.
4. Mikrób by mal vyvolať ochorenie na vhodnom zvieracom modeli.
5. Eliminácia mikróbov by mala viesť ku klinickému zlepšeniu.

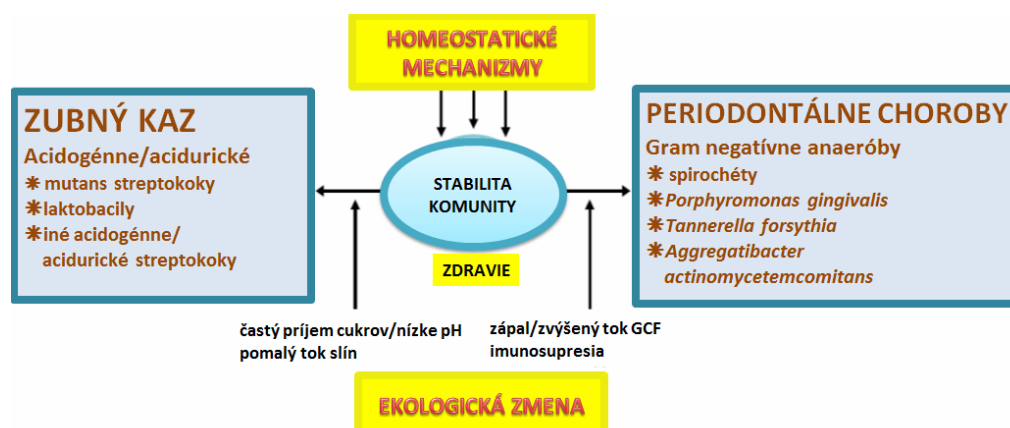
Existovali dva hlavné ideové školy o úlohe baktérií plaku v etiológii zubného kazu a parodontopatií. „**Hypotéza špecifického plaku**“ tvrdí, že len niekoľko druhov z rôznorodej

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

kolekcie organizmov reprezentujúcich rezidentnú mikroflóru plaku sú aktívne zapojené do indukcie chorôb. Tento návrh je cenný, lebo je zameraný na kontrolu ochorenia zacielením preventívneho opatrenia a ošetrovania proti obmedzenému počtu organizmov. Občas sa však choroba vyskytuje zdanlivo aj v neprítomnosti týchto suspektných patogénov, pričom tieto organizmy môžu byť izolované aj zo zdravých lokalít. Toto viedlo k „**hypotéze nešpecifického plaku**“ tvrdiacej, že choroba je považovaná za výsledok celkovej činnosti celkovej mikroflóry plaku. Týmto spôsobom heterogénna zmes mikroorganizmov by mohla hrať úlohu v indukcii ochorenia. V určitom ohľade sa argumenty o relatívnych prednostiach týchto hypotéz môžu byť sémantické, pretože ochorenia sprostredkované plakom sú v podstate polymikrobiálne infekcie, ale pri ktorých iba niektoré špecifické druhy prevládajú. Argumenty sa potom sústreďujú okolo definície pojmov špecifické a nešpecifické.

V poslednej dobe bola navrhnutá alternatívna hypotéza („**hypotéza ekologického plaku**“), ktorá umožňuje zlúčiť kľúčové prvky predchádzajúcich dvoch hypotéz. Stručne povedané, hypotéza ekologického plaku tvrdí, že organizmy spojené s ochorením môžu byť prítomné aj na zdravých miestach, ale v množstvách príliš nízkych než by boli klinicky relevantné. Choroba je výsledkom posunu v rovnováhe rezidentnej mikroflóry následkom zmeny podmienok životného prostredia v danej lokalite (obr. 10). Napr. nízke pH v plaku po častom príjme cukrov podporuje rast druhov produkujúcich kyseliny a acidotolerantných druhov, ktoré spôsobujú zubný kaz, zatiaľ čo zápalová odpoveď na akumuláciu zubného plaku v okolí ďasien vyvolávajúcu zvýšený tok GCF, ktorá môže slúžiť ako zdroj rôznych živín, uprednostňujúcich rast proteolytických a obligátne anaeróbných baktérií, ktoré prevládajú pri ochoreniach parodontu. Preto je dôležité, že prevencia môže byť dosiahnuté nielen priamou inhibíciou vyvolávajúcích baktérií, ale aj „odstránením“ alebo „neutralizáciou“ síl, ktoré riadia ich selekciu zo strany organizmov. Tieto teórie by mali byť podrobne preštudované, najmä z hľadiska perspektívnych preventívnych opatrení.



Obr. 10 – Zmena prostredia v zubnom plaku v zdraví a chorobe. (prevzaté Marsh a Martin, 2012)

K výrazným posunom v rovnováhe mikroflóry zubného plaku dochádza počas vývoja zubného kazu a parodontopatií. Početné výskumy našli silný vzťah medzi úrovňou

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

streptokokov skupiny mutans v plaku a pri začatí kazu skloviny. Zvýšené podiely laktobacilov sa nachádzajú pri pokročilých léziách. Avšak, vzťah medzi streptokokmi skupiny mutans a kazom nie je absolútny, ďalšie streptokoky s príslušnými vlastnosťami budú hrať tiež úlohu.

Vlastnosti kariogenných baktérií, ktoré korelujú s ich patogenitou sú reprezentované schopnosťou rýchlo metabolizovať cukry na kyseliny, a to najmä pri nízkych hodnotách pH, a prežívať a rásť za vytvorených kyslých podmienok (t.j. kariogénne baktérie sú acidogénne a acidotolerantné). Medzi ďalšie vlastnosti patrí schopnosť syntetizovať vnútrobunkové a extracelulárne polysacharidy. Stratégia na kontrolu alebo prevenciu zubného kazu sú založené na (a) znížení rozsahu zubného plaku vo všeobecnosti, alebo v potlačení špecifických kariogenných baktérií použitím látok proti plaku alebo antimikrobiálnych látok, (b) za použitia fluoridu na povzbudenie remineralizácie a posilnenie odolnosti skloviny proti ataku kyselín, a (c) na znížení tvorby kyselín baktériami vyhnutím sa častému príjmu kvasiteľných sacharidov v potrave tým, že tieto cukry sa nahradia s náhradou cukru alebo tým, že interferujú s metabolizmom baktérií alebo s antimikrobiálnymi činidlami. Ďalšie pre budúcnosť vyvíjané stratégie zahŕňajú (i) posilnenie kolonizačnej rezistencie plaku substitučnou terapiou, pričom neškodné kmene môžu eliminovať alebo potlačiť kariogénne druhy, a (ii) aktívne alebo pasívne očkovanie proti streptokokom skupiny mutans pomocou sub-jednotkovej vakcíny alebo špecifickými protilátkami.

Periodontálne ochorenia sú skupinou porúch, ktoré majú vplyv na podporné tkanivá zubov, ale rovnako ako pri zubnom kaze, nie je tu jeden alebo jedinečný patogén. Mnohé z kultivovaných baktérií z lokalít postihnutých ochorením sú gramnegatívne a obligátne anaeróbne. Hoci mikrobiológia počas choroby je rozmanitá, niektoré druhy sú bežne izolované z miest s rozpadom tkanív. Medzi ne patrí *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Dialister pneumosintes*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium* spp. a spirochéty, hoc 50% organizmov z týchto miest je nekultivovateľných a ich úlohu pri chorobe bude potrebné ešte určiť. Mnohé z týchto druhov sú silne proteolytické a môžu rozkladať tkanivá hostiteľa a/alebo zložky hostiteľovej obrany vrátane hlavných regulačných proteínov zápalovej odpovede. Invázia tkanív baktériami môže nastať najmä za určitých agresívnych a nekrotizujúcich podmienok, ako je napríklad nekrotizujúca ulceratívna gingivitída. K rizikovým faktorom pre ochorenia parodontu patria abnormality vo fungovaní hostiteľovej obrany, fajčenie a systémové ochorenia, ako je diabetes mellitus. Organizmy sa môžu vyhnúť alebo rozvrátiť obranu hostiteľa tvorbou leukotoxínu alebo prítomnosťou kapsuly (púzdra). Bakteriálne proteázy môže deregulovať zápalovú odpoveď, ktorá môže viesť k bystander poškodeniu hostiteľských tkanív. Ochorenia parodontu môžu pôsobiť aj ako rizikový faktor pre vážnejšie zdravotné stavy, vrátane predčasného pôrodu, nízkej pôrodnej hmotnosti detí a kardiovaskulárnych ochorení. Liečba a prevencia ochorení ďasien zahŕňa dobrú ústnu hygienu a účinnú kontrolu zubného plaku, ktoré môže byť rozšírené o používanie antimikrobiálnych látok.

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

Ochrana pred infekciou v zubnom lekárstve je dôležitá a musia byť použité štandardné bezpečnostné opatrenia u všetkých pacientov. Starostlivosť musí zahŕňať osobnú ochranu, dezinfekciu, dekontamináciu a likvidáciu odpadu. Personál musí byť očkovaný proti celému radu infekčných chorôb a musí sa vyhýbať profesionálnym zraneniam. Mali by sa používať ochranné okuliare, masky a chirurgické oblečenie (plášť, nohavice), ktoré je možné prať v práčke pri teplote nad 60 °C. Prístroje vyžadujú kompletné a komplexné čistenie prednostne so schválenými umývacími dezinficienciami a potom sterilizované parou vo vhodných autoklávoch. Dezinfekcia je vhodná najmä pre povrchy, drény, odtlačky, ostatné zubno-lekárske náčinie a dentálne zásobné jednotky vody. Odpady, najmä z kliník, musia byť oddelené od ostatného materiálu a zlikvidovaný v súlade s miestnymi predpismi.

Orálna mikrobiológia reprezentuje dnes samostatný odbor v zubnom lekárstve, využívajúci všetky oblasti lekárskej mikrobiológie a niektoré špecifické problémy, ktoré sú v súčasnosti intenzívne študované a už priniesli nejednu významný poznatok využiteľný aj v širšom kontexte medicíny alebo mikrobiologických vied.

LITERATÚRA

1. Aas, J.A., Paster, B.J., Stokes, L.N. et al.: Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J. Clin. Microbiol.*, 43, **2005**, p. 5721-5732.
2. Abiko, Y., Saitoh, M.: Salivary defensins and their importance in oral health and disease. *Curr. Pharm. Des.*, 13, **2007**, p. 3065-3072.
3. Allaker, R.P., Douglas, C.W.: Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *Intern. J. Antimicrob. Agents*, 33, **2009**, p. 8-13.
4. Azelmat, J., Larente, J.F., Grenier, D.: The anthraquinone rhein exhibits synergistic antibacterial activity in association with metronidazole or natural compounds and attenuates virulence gene expression in *Porphyromonas gingivalis*. *Arch. Oral Biol.*, 60, **2015**, p. 342 – 346.
5. Backhed, F., Ley, R.E., Sonnenburg, J. L. et al.: Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 307, **2005**, p. 1915-1920.
6. Bik, E.M.: Composition and function of the human-associated microbiota. *Nutr. Rev.*, 67, **2009**, p. S164-171.
7. Black, G.V.: Dr. Black's conclusions reviewed again. *Dental Cosmos*, 40, **1898**, p. 440-451.
8. Bowden, G.H.W.: Microbiology of root surface caries in humans. *J. Dent. Res.*, 69, **1990**, p. 1205-1210.
9. Buset, S.L., Walter, C., Friedmann, A. et al.: Are periodontal diseases really silent? A systematic review of their effect on quality of life. *J. Clin. Periodontol.*, 43, **2016**, p. 333-344.
10. Busscher, H.J., White, D.J., Ateman-Smit, J. et al.: Efficacy and mechanisms of non-antibacterial, chemical plaque control by dentifrices--an in vitro study. *J. Dent.*, 35, **2007**, p. 294-301.
11. Cavalier-Smith, T.: Cell evolution and Earth history: stasis and revolution. *Phil. Trans. R. Soc. London B Biol. Sci.*, 361, **2006**, p. 969-1006.
12. Cebra, J.J.: Influences of microbiota on intestinal immune system development. In *Am. J. Clin. Nutr.*, 69, **1999**, p. 1046S-1051S.
13. Costalonga, M., Herzberg, M.C.: The oral microbiome and the immunobiology of periodontal diseases and caries. *Immunol. Lett.*, 162, **2014**, p. 22-38.

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

14. Darveau, R.P.: Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Rev. Microbiol.*, 8, **2010**, p. 481-490.
15. Davidopoulou, S., Diza, E., Menexes, G. et al.: Salivary concentration of the antimicrobial peptide LL-37 in children. *Arch. Oral Biol.*, 57, **2012**, p. 865-869.
16. Dawes, C., Pedersen, A.M., Villa, A. et al.: The functions of human saliva: A review sponsored by the World Workshop on oral medicine VI. *Arch. Oral Biol.*, 60, **2015**, p. 863-974.
17. Debabrata, K., Prasanta, B., Vineet, N. et al.: Aggressive periodontitis: An appraisal of systemic effects on its etiology-genetic aspect. *J. Ind. Soc. Periodontol.*, 19, **2015**, p. 169-173.
18. Dixon, D.R., Bainbridge, B.W., Darveau, R.P.: Modulation of the innate immune response within the periodontium. *Periodontol. 2000*, 35, **2004**, p. 53-74.
19. Drago, L., Gismondo, M.R., Lombardi, A. et al.: Inhibition of in vitro growth of enteropathogens by new Lactobacillus isolates of human intestinal origin. *FEMS Microbiol. Lett.*, 153, **1997**, p. 455-463.
20. Dyal, S.D., Brown, M.T., Johnson, P.J.: Ancient invasions: from endosymbionts to organelles. *Science*, 304, **2004**, p. 253-257.
21. Ellen, R.P., Balcerzak-Raczkowski, I.B.: Interbacterial aggregation of *Actinomyces naeslundii* and dental plaque streptococci. *J. Periodont. Res.*, 12, **1977**, p. 11-20.
22. Elsner, P.: Antimicrobials and the skin physiological and pathological flora. *Curr. Probl. Dermatol.*, 33, **2006**, p. 35-41.
23. Fábíán, T.K., Beck, A., Fejérdy, P. et al.: Molecular mechanisms of taste recognition: considerations about the role of saliva. In *Intern. J. Mol. Sci.*, 16, **2015**, p. 5945-5974.
24. Faran, A.S.M., Tanwir, F.: Oral microbial habitat a dynamic entity. *J. Oral Biol. Craniofac. Res.*, 2, **2012**, p. 181-187.
25. Filoche, S., Wong, L., Sissons, C.H.: Oral biofilms: emerging concepts in microbial ecology. *J. Dental Res.*, 89, **2010**, p. 8-18.
26. Genco, R.J.: Host responses in periodontal diseases: current concepts. *J. Periodontol.*, 63, **1992**, p. 338-355.
27. Ghannoum, M.A., Jurevic, R.J., Mukherjee, P.K. et al.: Characterization of the oral fungal microbiome (Mycobiome) in healthy individuals. *PLoS Pathogens*, 6, **2010**, e1000713.
28. Gibbons, R.J., Nygaard, M.: Interbacterial aggregation of plaque bacteria. *Arch. Oral Biol.*, 15, **1970**, p. 1397-1400.
29. Gorr, S.U.: Antimicrobial peptides in periodontal innate defense. *Front. Oral Biol.*, 15, **2012**, p. 84-98.
30. Grice, E.A., Snitkin, E.S., Yockey, L.J. et al.: Longitudinal shift in diabetic wound microbiota correlates with prolonged skin defense response. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 107, **2010**, p. 14799-14804.
31. Hale, J.D., Ting, Y.T., Jack, R.W. et al.: Bacteriocin (mutacin) production by *Streptococcus mutans* genome sequence reference strain UA159: elucidation of the antimicrobial repertoire by genetic dissection. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, **2005**, p. 7613-7617.
32. Hamady, M., Knight, R.: Microbial community profiling for human microbiome projects: Tools, techniques, and challenges. In *Genome Res.*, 19, **2009**, p. 1141-1152.
33. He, J., Li, Y., Cao, Y. et al.: The oral microbiome diversity and its relation to human diseases. *Folia Microbiol. (Praha)*, 60, **2015**, p. 69-80.
34. Hooper, L.V.: Bacterial contributions to mammalian gut development. *Trends Microbiol.*, 12, **2004**, p. 129-134.
35. Hooper, L.V., Gordon, J.I.: Commensal host-bacterial relationships in the gut. In *Science*, 292, **2001**, p. 1115-1118.
36. Hooper, L.V., Midtvedt, T., Gordon, J.I.: How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Ann. Rev. Nutr.*, 22, **2002**, p. 283-307.

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

37. Ikegami, A., Honma, K., Sharma, A. et al.: Multiple functions of the leucine-rich repeat protein LrrA of *Treponema denticola*. *Infect. Immun.*, 72, **2004**, p. 4619-4627.
38. Keijser, B.J.F., Zaura, E., Huse, S.M. et al.: Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *J. Dental Res.*, 87, **2008**, p. 1016 - 1020.
39. Khavkin, A.I., Ippolitov, Y.A., Aleshina, E.O. et al.: Microflora and oral disease. *Eksp. Klin. Gastroenterol.*, No. 6, **2015**, p. 78-81.
40. Kleinberg, I.: A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *Streptococcus mutans* and the specific-plaque hypothesis. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 13, **2002**, p. 108-125.
41. Kolenbrander, P.E.: Coaggregations among oral bacteria. *Methods Enzymol.*, 253, **1995**, p. 385-397.
42. Kolenbrander, P.E., Andersen, R.N., Blehert, D.S. et al.: Communication among oral bacteria. *Microbiol. Molec. Biol. Rev.*, 66, **2002**, p. 486-505.
43. Kolenbrander, P.E., Palmer, R.J., Jr., Rickard, A.H. et al.: Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontol. 2000*, 42, **2006**, p. 47-79.
44. Kreth, J., Merritt, J., Shi, W. et al.: Competition and Coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm. *J. Bact.*, 187, **2005**, p. 7193-7203.
45. Kreth, J., Liu, N., Chen, Z. et al.: RNA regulators of host immunity and pathogen adaptive responses in the oral cavity. *Microb. Inf.*, 17, **2015**, p. 493-504.
46. Kumar, P.S.: Oral microbiota and systemic disease. *Anaerobe*, 24, **2013**, p. 90-93.
47. Kuramitsu, H.K., He, X., Lux, R. et al.: Interspecies interactions within oral microbial communities. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 71, **2007**, p. 653-670.
48. Lazarevic, V., Whiteson, K., Hernandez, D. et al.: Study of inter- and intra-individual variations in the salivary microbiota. *BMC Genomics*, 11, **2010**, p. 523.
49. Ledder, R.G., Gilbert, P., Huws, S.A. et al.: Molecular analysis of the subgingival microbiota in health and disease. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73, **2007**, p. 516-523.
50. Loe, H., Theilade, E., Jensen, S.B.: Experimental gingivitis in man. *J. Periodontol.*, 36, **1965**, p. 177-187.
51. Li, J., Helmerhorst, E.J., Leone, C.W. et al.: Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *J. Appl. Microbiol.*, 97, **2004**, p. 1311-1318.
52. Listgarten, M.: Formation of dental plaque and other oral biofilms. In: Newman, H.N., Wilson, M. (eds.): *Dental Plaque Revisited, Oral Biofilms in Health and Disease*. ISBN 09-520-4327-0, Eastman Dental Institute, University College London: BioLine. **1999**, p. 17-59.
53. Loesche, W.J.: Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci. Rev.*, 9, **1976**, p. 65-107.
54. Loesche, W.J.: Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol. Rev.*, 50, **1986**, p. 353-380.
55. Macpherson, A.J., Harris, N.L.: Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nature Rev. Immunol.*, 4, **2004**, p. 478-485.
56. Maeda, K., Nagata, H., Nonaka, A. et al.: Oral streptococcal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase mediates interaction with *Porphyromonas gingivalis* fimbriae. *Microb. Infect.*, 6, **2004**, p. 1163-1170.
57. Mager, D.L., Ximenez-Fyvie, L.A., Haffajee, A.D. et al.: Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. In *J. Clin. Periodontol.*, 30, **2003**, p. 644-654.
58. Marcotte, H., Lavoie, M.C.: Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol. Molec. Biol. Rev.*, 62, **1998**, p. 71-109.
59. Marsh, P.D.: Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv. Dent. Res.*, 8, **1994**, p. 263-271.

Ništiar, F.:

ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

60. Marsh, P.D., Martin, M.V.: *Oral Microbiology*, 5th edition, ISBN 07-020-4148-3, Butterworth-Heinemann, **2012**, p. 1-232.
61. Marsh, P.D., Do, T., Beighton, D. et al.: Influence of saliva on the oral microbiota. *Periodontol.* 2000, **70**, **2016**, p. 80-92.
62. McBain, A.J., Sissons, C., Ledger, R.G. et al.: Development and characterization of a simple perfused oral microcosm. *J. Appl. Microbiol.*, **98**, **2005**, p. 624-634.
63. McFarland, L.V.: Normal flora: diversity and functions. *Microb. Ecol. Health Dis.*, **12**, **2000**, p. 193-207.
64. McIntire, F.C., Vatter, A.E., Baros, J. et al.: Mechanism of coaggregation between *Actinomyces viscosus* T14V and *Streptococcus sanguis* 34. *Infect. Immun.*, **21**, **1978**, p. 978-988.
65. Meckel, A.H.: The formation and properties of organic films on teeth. *Arch. Oral Biol.*, **10**, **1965**, p. 585-598.
66. Melino, S., Santone, C., Di Nardo, P. et al.: Hostatins: salivary peptides with copper(II)- and zinc(II)-binding motifs: perspectives for biomedical applications. *FEBS J.*, **281**, **2014**, p. 657-672.
67. Nyvad, B.: Microbial colonization of human tooth surfaces. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.*, **39**, **1993**, p. 7-45.
68. Nyvad, B., Kilian, M.: Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo. *Scand. J. Dental Res.*, **95**, **1987**, p. 369-380.
69. Palmer, C.A., Kent, R., Jr., Loo, C.Y.: Diet and caries-associated bacteria in severe early childhood caries. *J. Dental Res.*, **89**, **2010**, p. 1224-1229.
70. Paster, B.J., Olsen, I., Aas, J.A. et al.: The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol.* 2000, **42**, **2006**, p. 80-87.
71. Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M. et al.: The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.*, **19**, **2009**, p. 2317-2323.
72. Reese, S., Guggenheim, B.: A novel TEM contrasting technique for extracellular polysaccharides in in vitro biofilms. *Micr. Res. Techn.*, **70**, **2007**, p. 816-822.
73. Ritz, H. L.: Microbial population shifts in developing human dental plaque. *Arch. Oral Biol.*, **12**, **1967**, p. 1561-1568.
74. Robinson, C.J., Bohannon, B.J.M., Young, V.B.: From structure to function: the ecology of host-associated microbial communities. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **74**, **2010**, p. 453-476.
75. Rosen, G., Sela, M.N.: Coaggregation of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* PK 1594 is mediated by capsular polysaccharide and lipopolysaccharide. *FEMS Microbiol. Lett.*, **256**, **2006**, p. 304-310.
76. Rosen, G., Genzler, T., Sela, M.N.: Coaggregation of *Treponema denticola* with *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* is mediated by the major outer sheath protein of *Treponema denticola*. *FEMS Microbiol. Lett.*, **289**, **2008**, p. 59-66.
77. Rossi, O., van Baarlen, P., Wells, J.M.: Host-recognition of pathogens and commensals in the mammalian intestine. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **358**, **2013**, p. 291-321.
78. Schafer, C.A., Schafer, J.J., Yakob, M. et al.: Saliva diagnostics: utilizing oral fluids to determine health status. *Monogr. Oral Sci.*, **24**, **2014**, p. 88-98.
79. Scheie, A.A.: Mechanisms of dental plaque formation. *Adv. Dental Res.*, **8**, **1994**, p. 246-253.
80. Shen, S., Samaranayake, L.P., Yip, H.K.: Coaggregation profiles of the microflora from root surface caries lesions. *Arch. Oral Biol.*, **50**, **2005**, p. 23-32.
81. Siqueira, J.F., Jr., Rocas, I.N.: Diversity of endodontic microbiota revisited. *J. Dental Res.*, **88**, **2009**, p. 969-981.
82. Smith, D.J., Anderson, J.M., King, W.F. et al.: Oral streptococcal colonization of infants. *Oral. Microbiol. Immunol.*, **8**, **1993**, p. 1-4.

Ništiar, F.: ÚSTNA DUTINA AKO CHARAKTERISTICKÝ EKOSYSTÉM

83. Solt, I., Kim, M.J., Offer, C.: The human microbiome. *Harefuah*, 150, **2011**, p. 484-488.
84. Stecher, B., Hardt, W.D.: The role of microbiota in infectious disease. *Trends Microbiol.*, 16, **2008**, p. 107-114.
85. Takahashi, N.: Oral microbiome metabolism: from “Who are they?” to “What are doing?”. *J. Dent. Res.*, 94, **2015**, p. 1628-1637.
86. Takahashi, N., Nyvad, B.: The role of bacteria in the caries process. *J. Dent. Res.*, 90, **2011**, p. 294-303.
87. Tlaskalová-Hogenová, H., Stepánková, R., Hudcovic, T. et al.: Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. In *Immunol. Lett.*, 93, **2004**, p. 97-108.
88. Tojo, R., Suárez, A., Clemente, M.G. et al.: Intestinal microbiota in health and disease: role of bifidobacteria in gut homeostasis. *World J. Gastroenterol.*, 20, **2014**, p. 15163-15176.
89. Umu, O.C., Oostindjer, M., Pope, P.B. et al.: Potential applications of gut microbiota to control human physiology. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 104, **2013**, p. 609-618.
90. Van Houte, J.: Role of micro-organisms in caries etiology. *J. Dent. Res.*, 73, **1994**, p. 672-681.
91. Wang, R.K., He, X.S., Hu, W. et al.: Analysis of interspecies adherence of oral bacteria using a membrane binding assay coupled with polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis profiling. *Intern. J. Oral Sci.*, 3, **2011**, p. 90-97.
92. Weber, T.: *Memorix zubního lékařství*. Grada Publ., Praha, **2006**, p. 1-430.
93. Wilson, M.: *Microbial Inhabitants of Humans; Their ecology and role in health and disease*: Cambridge University Press, ISBN 0-521-84158-5, **2005**, p. 1-455.
94. Wood, S.R., Kirkham, J., Marsh, P.D. et al.: Architecture of intact natural human plaque biofilms studied by confocal laser scanning microscopy. *J. Dental Res.*, 79, **2000**, p. 21-27.
95. Xie, G., Chain, P.S.G., Lo, C.C. et al.: Community and gene composition of a human dental plaque microbiota obtained by metagenomic sequencing. *Mol. Oral Microbiol.*, 25, **2010**, p. 391-405.
96. Yao, Y., Grogan, J., Zehnder, M. et al.: Compositional analysis of human acquired enamel pellicle by mass spectrometry. *Arch. Oral Biol.*, 46, **2001**, p. 293-303.
97. Zaura, E., Nicu, E.A., Krom, B.P. et al.: Acquiring and maintaining a normal oral microbiome: Current perspective. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 4, **2014**, Art. No. 85, 8 pp.
98. Zeng, B., Li, G., Yuan, J. et al.: Effects of age and strain on the microbiota colonization in an infant human flora-associated mouse model. *Curr. Microbiol.*, 67, **2013**, p. 313-321.
99. Zijngje, V., van Leeuwen, M.B.M., Degener, J.E. et al.: Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLoS ONE*, 5, **2010**, e9321.