

# Utjecaj fizioloških faktora na pojavu kristala u slini

---

Radovčić, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:086174>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 4.0 International](#)/[Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-20**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Ana Radovčić

# **Utjecaj fizioloških faktora na pojavu kristala u slini**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2020.

Rad je ostvaren na Zavodu za fiziologiju Stomatološkoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Mentor rada: dr. sc. Iva Marolt, Zavod za fiziologiju Stomatološkoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Lektor hrvatskoga jezika: Maja Božiković, prof. hrvatskoga i engleskoga jezika

Lektor engleskoga jezika: Maja Božiković, prof. hrvatskoga i engleskoga jezika

Sastav Povjerenstva za obranu diplomskoga rada:

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

Datum obrane rada: \_\_\_\_\_

Rad sadrži: 30 stranica

12 slika

CD

Rad je vlastito autorsko djelo, koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu izvorni su doprinos autora diplomskoga rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

*Hvala mojoj mentorici dr. sc. Ivi Marolt Banek na pomoći pri izradi  
diplomskoga rada.*

*Zahvaljujem prijateljima i svojoj grupi što su mi uljepšali ovih 6 godina.*

*Hvala i mojoj obitelji na ljubavi i podršci.*

## UTJECAJ FIZIOLOŠKIH FAKTORA NA POJAVU KRISTALA U SLINI

### Sažetak

Različite forme kristala vidljive su u nativnom preparatu sline promatranom svjetlosnim mikroskopom. Kristali mogu prekrivati cijeli preparat i biti u formi paprati (papraticija, *engl. ferning*) ili se mogu javiti u drugim formama. Sastav sline određuje pojavu kristala međudjelovanjem iona Na i Cl s proteinima (mucinom). Na koncentraciju Na i Cl iona u slini najveći utjecaj ima aldosteron, hormon nadbubrežne žlijezde, dok koncentracija mucina ovisi i o stupnju podraživosti autonomnog živčanog sustava. Kristali u obliku paprati, koji prekrivaju cijeli preparat, pojavljuju se u periovulatornom razdoblju spolnoga ciklusa. Estrogen, hormon koji maksimalnu koncentraciju doseže dva dana prije ovulacije, inhibitorno utječe na izlučivanje aldosterona. Kristale u obliku paprati u slini nalazimo i kod osoba muškog spola, a mnoga fiziološka stanja koja podražavaju autonomni živčani sustav, koji utječe na protok sline, imaju utjecaj na pojavu i formiranje kristala.

**Ključne riječi:** kristalizacija sline, ovulacija, papraticija, protok sline

## **THE INFLUENCE OF PHYSIOLOGICAL FACTORS ON THE FORMATION OF CRYSTALS IN SALIVA**

### **Summary**

Different forms of crystals are visible in the native saliva preparation observed by a light microscope. Crystals may cover entire slide preparation and be in a form of ferns and in that case it is called ferning. Their appearance is related to the composition of saliva i.e. interaction of ions Na and Cl with protein (mucin). On the salivary concentration of Na and Cl ions, the greatest influence has aldosterone, the hormone of the adrenal gland, while the concentration of mucin is depended on the degree of excitation of the autonomic nervous system. Fern-shaped crystals that cover the entire preparation appear in the periovulatory period of the sex cycle. Oestrogen, a hormone that reaches the maximum concentration two days before ovulation, inhibits the excretion of aldosterone. Crystals in the form of ferns in saliva may also be present in male individuals. Many physiological conditions that stimulate the autonomic nervous system, as they influence the salivary flow rate, can affect the appearance and formation of crystals.

**Keywords:** saliva crystallization, ovulation, ferning, saliva flow

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Sastav sline .....	2
1.2. Funkcija sline.....	2
1.3. Žlijezde slinovnice.....	3
1.4. Lučenje sline.....	3
1.5. Aldosteron .....	5
2. FIZIOLOŠKI FAKTORI KOJI UTJEČU NA POJAVU KRISTALA U SLINI .....	7
2.1. Ženski spolni ciklus.....	8
2.2. Protok sline.....	12
2.3. Spol.....	15
2.4. Mišićni rad.....	17
2.5. Patološka stanja .....	18
3. RASPRAVA.....	20
4. ZAKLJUČAK .....	22
5. LITERATURA.....	24
6. ŽIVOTOPIS .....	29

## **1. UVOD**



Slina se danas sve više koristi za rano otkrivanje i kontrolu bolesti, pri određivanju koncentracije lijekova i drugih supstanci u organizmu, pri dijagnostici oralnih, parodontnih, autoimunih, kardiovaskularnih, zaraznih, zloćudnih i krvnih bolesti (1). Njezina je prednost kao dijagnostičkoga sredstva u odnosu na krv, kao primjer najčešće korištene tjelesne tekućine u laboratorijskoj dijagnostici, jednostavnost i neinvazivnost prilikom dobivanja njezina uzorka te ekonomska isplativost (1, 2). Poput krvi, slina odražava fiziološka i patološka stanja organizma jer sadrži obilje proteina, enzima, hormona, iona i drugih molekula, kao i široki spektar proteina važnih za rano otkrivanje bolesti (1).

Test papratizacije sline danas se koristi kao metoda prirodna planiranja obitelji. Prije ovulacije u slini dolazi do pojave kristala u obliku paprati. Taj crtež paprati u slini može, neovisno o ovulaciji, izostati ili se pojaviti u nekim drugim danima ciklusa (3). Svrha rada bila je istražiti literaturu o pojavi kristala u slini i/ili o sastavu sline, tj. koncentracije iona Na i Cl i proteina u različitim stanjima organizma (mišićni rad, ovulacija, stimulacija salivacije).

### **1.1. Sastav sline**

Slina se sastoji od mješavine oralnih tekućina: serozne i mukozne sline, tekućine iz gingivnog sulkusa, transudata seruma koji sadrži stanice epitela sluznice i krvne stanice, mikroorganizme i čestice hrane adherirane na sluznici (1). Sadrži vodu te organske i anorganske sastojke. Anorganski sastojci sline su: natrij, klorid, kalij, kalcij, bikarbonati, fosfati, tiocijanati, fluoride, jodidi i magnezij. Organski produkti uključuju: mucin, imunoglobulin, albumin, lizozim, amilazu, uričnu kiselinu, a u tragovima i markere krvnih grupa, vitamine, aminokiseline, glukozu i druge enzime (4).

### **1.2. Funkcija sline**

Funkcija sline mnogostruka je. Njezina primarna funkcija vlaženje je struktura usne šupljine čime štiti epitel usne šupljine od dehidracije. Zatim ima važnu funkciju u probavi hrane. Osim što sadrži sluz, koja omogućuje formiranje bolusa hrane nakon žvakanja i njegovo lagano klizanje uzduž probavnog sustava, sadrži i pojedine enzime potrebne za razgradnju hrane kao što je amilaza za probavu škroba i jezična lipaza. Osim toga, ona rastapa hranu i dovodi je u dodir s okusnim pupoljcima (4, 5).

Slina je važna za higijenu usta. Prvo, ona ispire patogene bakterije i čestice hrane potrebne za njihov metabolizam. Drugo, ima antimikrobni učinak zbog prisutnosti proteolitičkih enzima od kojih je najvažniji lizozim. Osim toga, sadrži i imunoglobuline i to predominantno IgA (4,5). Antimikrobni učinak ostvaruje i puferkim sustavima koje čine fosfati i bikarbonati koji specifično neutraliziraju kiseline te tako održavaju pH oko 6.5 (4, 5). Prisutnost sline važna je i zbog procesa remineralizacije zuba za što su potrebni kalcijevi i fosfatni ioni iz sline (6).

### **1.3. Žlijezde slinovnice**

Slinu izlučuju velike i male žlijezde slinovnice. Velike žlijezde slinovnice su: glandula parotis – zaušna žlijezda, glandula submandibularis – podčeljusna žlijezda i glandula sublingualis – podjezična žlijezda. Uz velike žlijezde slinovnice postoje i stotine malih žlijezda koje se nalaze u submukozi rasprostranjene po cijeloj usnoj šupljini (4, 6). Žlijezde slinovnice sastoje se od dva dijela: acinusa, koji proizvode slinu, i izvodnih kanala, koji mijenjaju njezin ionski sastav i dovode je do usne šupljine (6). Žlijezde slinovnice bogato su vaskularizirane i inervirane. Žlijezde slinovnice imaju trojaku inervaciju: simpatičku, parasimpatičku i senzibilnu (7).

### **1.4. Lučenje sline**

Lučenje sline odvija se u dva stadija: prvi se zbiva u acinusima, a drugi u izvodnim kanalima. Acinusi, u uvjetima mirovanja, luče primarni sekret koji je izotoničan i sadrži ptijalin, mucin ili oba. Po svom je sastavu sličan plazmi, jedino što je koncentracija kalija nešto viša nego ona u plazmi (5,8).

Voda iz krvožilnog sustava dolazi međustaničnim vezama ili kroz acinusne stanice kanalima akvaporina te tako nastaje izotonična slina (6).

U drugom stadiju, izotoničan i sličan plazmi, primarni sekret protječe izvodnim kanalima te oni znatno mijenjaju njegov ionski sastav. Natrijevi i kloridni ioni reapsorbiraju se iz svih izvodnih kanala žlijezda slinovnica, a kalijevi i hidrogenkarbonatni ioni secerniraju se. Snažne međustanične veze u izvodnim kanalima ne dopuštaju prolazak vodi i time doprinose stvaranju hipotoničnog sekreta (5,8).

Natrijevi ioni aktivno se reapsorbiraju iz izvodnih kanala u dva koraka. Prvo, ulaze u stanice izvodnih kanala kroz natrijeve kanale u luminalom dijelu membrane stanice. Drugo, putem Na/K

crpke koja se nalazi u bazolateralnim dijelovima membrane, izbacuje se Na iz stanice, a u zamjenu za njega aktivno se secerniraju kalijevi ioni. Tako se koncentracija Na u slini smanjuje a koncentracija kalija povećava (5, 8).

Kloridni ioni reapsorbiraju se u zamjenu za hidrogenkarbonatne ione. Također, zbog toga što je reapsorpcija Na veća nego sekrecija kalija, u kanalima slinovnica dolazi do povećane negativnosti od oko -70 mV. Zbog povećane negativnosti dolazi i do pasivne reapsorpcije kloridnih iona. Kroz kloridne kanale u bazolateralnim dijelovima membrane, kloridni ioni izbacuju se iz stanice (5, 8).

U uvjetima mirovanja krajnji je rezultat tih prijenosnih procesa znatna promjena ionskoga sastava sline u odnosu na plazmu pa tako koncentracija natrijevih iona u plazmi iznosi oko 142 mmol/L, a klorovih iona oko 108 mmol/L. Njihova je koncentracija u slini otprilike oko 15 mmol/L. S druge strane, koncentracija kalijevih iona u plazmi iznosi oko 4.2 mmol/L, a u slini oko 30 mmol/L. Koncentracija hidrogenkarbonatnih iona u plazmi iznosi oko 24 mmol/L, a u slini 50 do 70 mmol/L (5).

Lučenje sline iz žlijezda slinovnica uglavnom je pod nadzorom autonomnog živčanog sustava.

Parasimpatički živčani sustav snažno podražuje slinovnice, što izaziva stvaranje velike količine vodenastog sekreta siromašnog proteinima. S druge strane, podraživanjem simpatičkog živčanog sustava dolazi do stvaranja koncentriranog sekreta, koji je bogat proteinima (8).

Jakim simpatičkim podraživanjem dolazi i do vazokonstrukcije pa tako dolazi i do smanjene veličine sekrecije, dok slabiji podražaj povećava veličinu sekrecije (5, 8).

Parasimpatičko podraživanje ima najveću ulogu u regulaciji količine izlučene sline. Uobičajeno je da se dnevno luči oko 1.5 L sline, od čega je 90 % produkt lučenja velikih žlijezda slinovnica, a preostalih 10 % malih žlijezda slinovnica. Parasimpatički živčani signali potječu iz gornjih i donjih salivacijskih jezgri u moždanom deblu. Njih pobuđuju okusni i dodirni podražaji s jezika te mogu biti stimulirani i živčanim signalima koji pristižu iz viših centara središnjeg živčanog sustava kao što je npr. miris omiljene hrane. Preganglijska živčana vlakana iz salivacijskih jezgri putuju VII. i IX. kranijalnim živcima do submandibularnog, odnosno otičkog ganglija gdje dolazi do prekapčanja s postganglijskim vlaknima koja direktno inerviraju žlijezde. Postganglijska vlakna otpuštanjem neurotransmitora acetilkolina ostvaruju svoje djelovanje (5, 8).

Simpatičko podraživanje ima znatno manju ulogu u regulaciji lučenja sline od parasimpatičkog. Postganglijska simpatička živčana vlakna potječu iz gornjeg cervikalnog ganglija i do slinovnica pristižu prateći krvne žile. Simpatička postganglijska vlakna otpuštaju neurotransmitor noradrenalin (8).

Oba neurotransmitora, acetilkolin i noradrenalin, mogu stimulirati lučenje sline djelovanjem na salivarne acinusne stanice. Da bi acetilkolin i noradrenalin, koji su izlučeni na autonomnim živčanim završecima, podražili acinusne stanice moraju se najprije vezati za specifične receptore. Acetilkolin se veže za muskarinske receptore stanica žlijezda slinovnica gdje dovodi do povećane propusnosti membrane stanice za ione kalcija i time povećava sekreciju soli u slini te dolazi do porasta količine izlučene sline dok vezanjem noradrenalina za beta adrenergične receptore dolazi do povećane razine cAMP što dovodi do pojačane sekrecije proteina u slini (5, 8).

### **1.5. Aldosteron**

Na funkciju eptelnih stanica izvodnih kanala žlijezda slinovnica djeluje hormon aldosteron, hormon nadbubrežne žlijezde. Radi se o jedinom hormonu čiji se učinak odražava na regulaciju salivarne sekrecije (8).

Aldosteron svojim djelovanjem povećava reapsorpciju natrija i istodobno povećava sekreciju kalija u epitelnim stanicama izvodnih kanala žlijezda slinovnica (8).

Žlijezde slinovnice stvaraju primarni sekret koji sadrži znatnu količinu iona natrija i klora. Dok sekret prolazi izvodnim kanalima, veći se dio iona natrija i klora apsorbira, a kalij i hidrogenkarbonat secerniraju se. Aldosteron znatno povećava reapsorpciju iona natrija i klora te sekreciju kalija u izvodnim kanalima (5, 8).

Mehanizam djelovanja aldosterona u stanici temelji se na stimulaciji natrij/kalij-ATPazne crpke u bazolateralnoj te povećanju propusnosti za natrij u luminalnoj membrani (5).

Za lučenje aldosterone nužan je ACTH iz prednjeg režnja hipofize, ali u većini fizioloških stanja njegovo lučenje uglavnom nadziru koncentracije angiotenzina II i kalija u izvanstaničnoj tekućini. Angiotenzin II hormon je koji u tijelu nadzire izlučivanje natrija. Koncentracija angiotenzina II povećana je u stanjima niskoga krvnoga tlaka i/ili smanjenoga volumena izvanstanične tekućine. Njegova povećana koncentracija povećava lučenje aldosterona koji, povećanim zadržavanjem

natrija i vode, povećava krvni volumen i vraća krvni tlak na normalne vrijednostima. Obrnuto, pri velikom unosu natrija koči se stvaranje aldosterona. Isti učinak ima i povišenje koncentracije kalija u izvanstaničnoj tekućini čija se vrijednost vraća na normalnu razinu povećanim lučenjem aldosterona (5).

## **2. FIZIOLOŠKI FAKTORI KOJI UTJEČU NA POJAVU KRISTALA U SLINI**

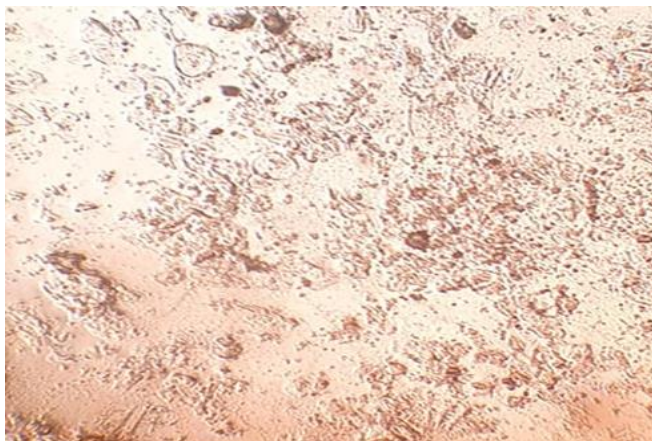
## 2.1. ŽENSKI SPOLNI CIKLUS

Ženski mjesečni spolni ciklus su zbivanja koja prate ritmične promjene lučenja ženskih spolnih hormona te odgovarajuće fizičke promjene jajnika i drugih spolnih organa. Ciklus prosječno traje prosječno 28 dana i sastoji se od tri faze, a to su:

1. Folikularna je faza ona u kojoj se odvija rast i sazrijevanje folikula. Traje od 1. dana ciklusa do ovulacije. U tijeku folikularne faze luči se uglavnom estrogen.
2. Ovulacijska je faza ona u kojoj dolazi do pucanja folikula i izbacivanja jajašca u trbušnu šupljinu. Traje 1 do 2 dana. Prethodi joj skok u lučenju luteinizacijskog hormona i estrogena (estradiola)
3. Luteinska je faza ona koju prati rast žutog tijela. Uobičajeno traje 12 do 16 dana. U tijeku luteinske faze žuto tijelo luči progesteron (5).

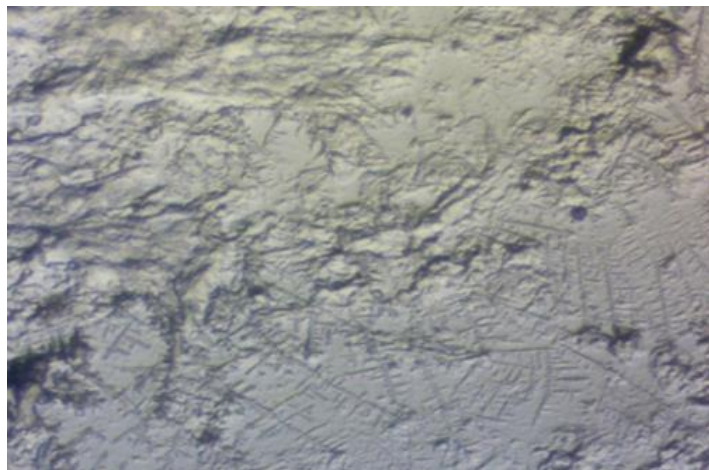
Brojna istraživanja dokazala su postojanje kristala u slini neposredno prije ovulacije. Godine 1946. Papanicolau je primijetio da se ženina cervikalna sluz pod utjecajem ženskih spolnih hormona mijenja ovisno o menstrualnom ciklusu te je utvrdio da se pojavljuju kristali nalik na paprati (9). Godine 1968. Dr. Biel Cassals utvrdio je da se te promjene pojavljuju i u slini te predložio metodu praćenja plodnih dana pomoću sline. Taj karakterističan izgled paprati posljedica je interakcije elektrolita s mucinom i vidljiv je na uzorku sline osušene na sobnoj temperature i promatrane svjetlosnim mikroskopom (10). Saibaba i suradnici pokazali su da se koncentracije Na i Cl u slini povećavaju tijekom ovulacije što pridonosi formiranju paprati. U vrijeme ovulacije koncentracije Na iona u slini u vrijeme ovulacije su porasle za  $0.27 \pm 0.08$  mmol/mL, dok su koncentracije Cl iona u slini bile veće za  $0.045 \pm 0.010$  mmol/L (11). Također, u istraživanju su dokazali da se u slini tijekom ovulacije povećava i koncentracija estrogena. Estrogen, hormon koji maksimalnu koncentraciju doseže dva dana prije ovulacije, slične je kemijske građe aldosteronu, stoga inhibitorno utječe na njegovo izlučivanje (12). Time se smanjuje djelovanje aldosterona, jedinoga hormona koji potiče reapsorpciju Na i Cl iona u žlijezdama slinovnicama (8). Zbog toga, u vremenu koje neposredno prethodi samoj ovulaciji, imamo povišenu koncentraciju Na i Cl iona u slini što nam je jedan od uvjeta za pojavu kristala oblika paprati u slini (11, 13). Drugi uvjet za pojavu kristala oblika paprati u slini, u perioovulatornoj fazi, povišena je koncentracija proteina u odnosu na ostale faze spolnog ciklusa. Alagendran i suradnici dokazali su povišenje koncentracije proteina u ovulatornoj fazi za  $16.30 \pm 0.95$  mg/ml u odnosu na folikularnu i luteinsku fazu ciklusa (14) Iz

tog se razloga test salivarne papratizacije može koristiti kao metoda prirodnog planiranja obitelji (3). Istraživanjem koje su proveli Belmar i suradnici, u razdoblju od 2013. do 2015. tijekom kojega su uspoređivali ultrazvučnu metodu dokazivanja ovulacije s metodom salivarne papratizacije, pokazali su podudarnost pojave papratizacije u slini s ultrazvučno dokazanom ovulacijom (15). Podudarnost papratizacije nativnog preparata sline i ovulacije nalaze i Guida 1993. godine te Dhaval (16,17). S druge strane, Guida i suradnici 1999. godine ne preporučuju test salivarne papratizacije kao metodu praćenja ovulacije (18). Isto tako Braat i suradnici smatraju da metoda praćenja salivarne papratizacije nije pouzdana metoda praćenja ovulacije (19). Razvijeni su brojni mali mikroskopi koje žene mogu samostalno koristiti s ciljem dokazivanja ovulacije putem sline. Salamassi i suradnici provode istraživanje u kojem ispituju mogućnost detekcije ovulacije putem sline uz uporabu mini mikroskopa GERATHERM OVU CONTROL (Geratherm, Geschwenda, Njemačka), dok su Melnick i Goudas ispitivali drugi tip mikroskopa, KNOWHEN (Hilin Life Products, Inc. Newark, NJ, SAD). U oba slučaja utvrdili su da žene mogu, korištenjem mini mikroskopa, pouzdano detektirati pojavu paprati i time pratiti plodne dane (10, 20). Slika nativnog preparata sline gledana svjetlosnim mikroskopom, mijenja se tijekom ciklusa (10, 13, 15, 21). U prvom dijelu ciklusa, ranoj folikularnoj fazi, nema kristalizacije u obliku paprati (slika 1.), ali kako se vrijeme ovulacije bliži, a koncentracija estrogena koji utječe na aldosteron raste, pojavljuje se u preparatu sline kristalići u obliku paprati (slika 2.) koji zauzimaju cijeli preparat za vrijeme vrhunca koncentracije estrogena, odnosno 1 do 2 dana prije ovulacije (slika 3.). Odmah nakon ovulacije, koncentracija estrogena pada i opsežna papratizacija se gubi (slika 4.) ali u luteinskoj fazi ciklusa može se ponovno pojaviti bez da je vezana za ovulaciju (slika 5.).



Slika 1. Nativni preparat sline u folikularnoj fazi, uvećanje 70 x, svjetlosni mikroskop. U preparatu nisu vidljivi kristali. Preuzeto dopuštenjem autora: dr. sc. Iva Marolt Banek.



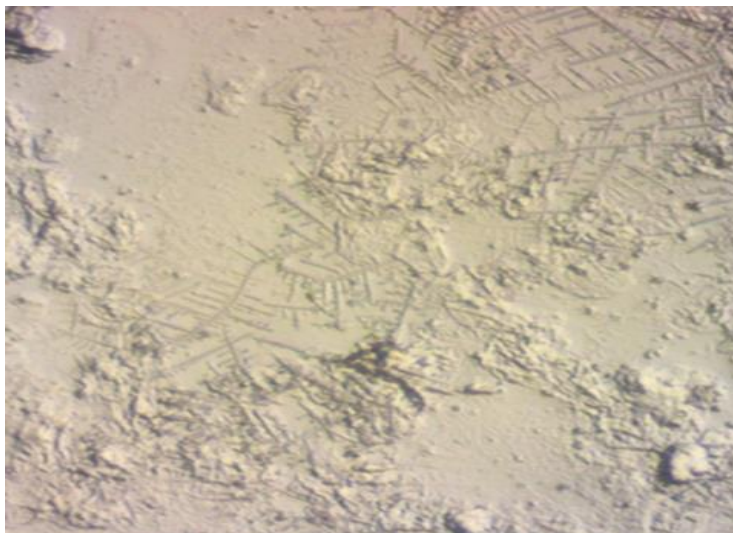


Slika 2. Nativni preparat sline u folikularnoj fazi, uvećanje 60 x, svjetlosni mikroskop. U preparati vidljivi kristali koji poprimaju oblik paprati ali ne zauzimaju cijelo vidno polje.

Preuzeto dopuštenjem autora: dr. sc. Iva Marolt Banek.



Slika 3. Nativni preparat sline neposredno prije ovulacije, uzet 12 dan od 28 dana ciklusa, uvećanje 70 x, svjetlosni mikroskop. Cijelo vidno polje ispunjeno je pravilnim kristalima u obliku paprati. Preuzeto dopuštenjem autora: dr. sc. Iva Marolt Banek.



Slika 4. Nativni preparat sline nakon ovulacije, uvećanje 60 x, svjetlosni mikroskop. U vidnom polju vidljivi su pojedini kristali u obliku paprati. Preuzeto dopuštenjem autora: dr. sc. Iva Marolt Banek.



Slika 5. Nativni preparat sline u luteinskoj fazi, uvećanje 70 x, svjetlosni mikroskop. Cijelo vidno polje ispunjeno je pravilnim kristalima u obliku paprati. Preuzeto dopuštenjem autora: dr. sc. Iva Marolt Banek.

## 2.2. PROTOK SLINE

U uputama za korištenje kućnog mikroskopa za praćenje ovulacije navedeno je da se uzorci sline uzimaju prije jela i prije pranja zubi. To se može povezati s mogućom stimulacijom protoka zbog okusa i mirisa hrane te same mastikacije ili drugih podražaja stimulacije protoka.

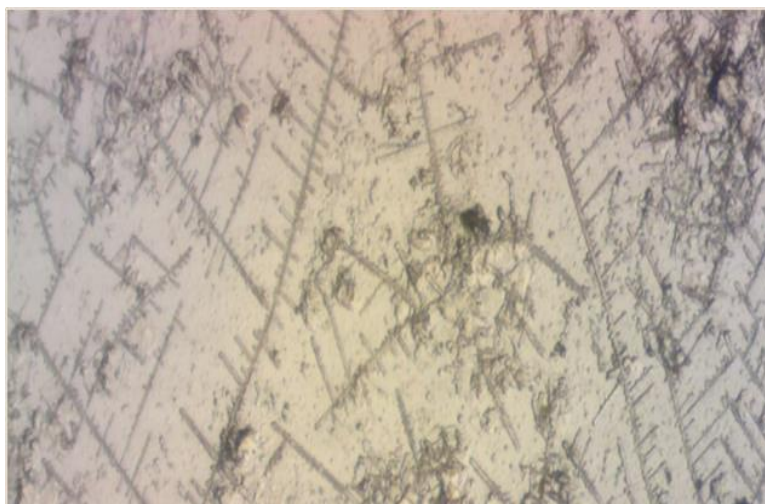
Nestimulirana slina je ona koja se luči u uvjetima mirovanja kada nema vanjskih podražaja kao što je npr. žvakanje i okus hrane koji bi slali signale u više centre živčanog sustava i time povećali stimulaciju slinovnica od strane autonomnog živčanog sustava, kao što se događa kod stimuliranog lučenja sline (6). Kod nestimulirane sline najveću količinu sline luči submandibularna žlijezda (65 %), potom parotidna (20 %) i sublingvalna (5 %). Male žlijezde slinovnice luče oko 10 % sline. Brzina lučenja je 0.1 – 0.3 mL/min.

Prilikom stimulacije lučenja sline, primjerice pomoću komadića voska, većinu sline luči parotidna žlijezda (> 50 %), zatim submandibularna (35 %) te potom sublingvalna i male žlijezde slinovnice s udjelom od oko 7 do 8 % svaka. Stimulacijom lučenja sline brzina sekrecije može iznositi i do 7 mL/min (22). Pri obilnom stvaranju sline ionski sastav sline je sličniji ionskom sastavu plazme zbog znatno bržeg protoka sline kroz izvodne kanale, tako da stimulirana slina ima veću koncentraciju natrija i klorida u odnosu na nestimuliranu (8). U nestimuliranoj slini koncentracija Na iona iznosi 15 mmol/L, a u stimuliranoj iznosi 90 mmol/L. Promjene koncentracije Na iona prati i promjena koncentracije Cl iona pa je u nestimuliranoj slini 15 mmol/L, a u stimuliranoj slini 50 mmol/L. To pokazuje da brzina resorpcije Na i Cl iona ne prati brzinu protoka (8). Istraživanje provedeno od strane Rayment i suradnika pokazalo je da se u stimuliranoj slini nalaze manje koncentracije mucina u odnosu na nestimuliranu. Zbog manje koncentracije mucina, unatoč povećanoj koncentraciji iona Na i Cl, ne dolazi do kristalizacije u obliku paprati, nego se pojavljuju druge forme kristala (23).

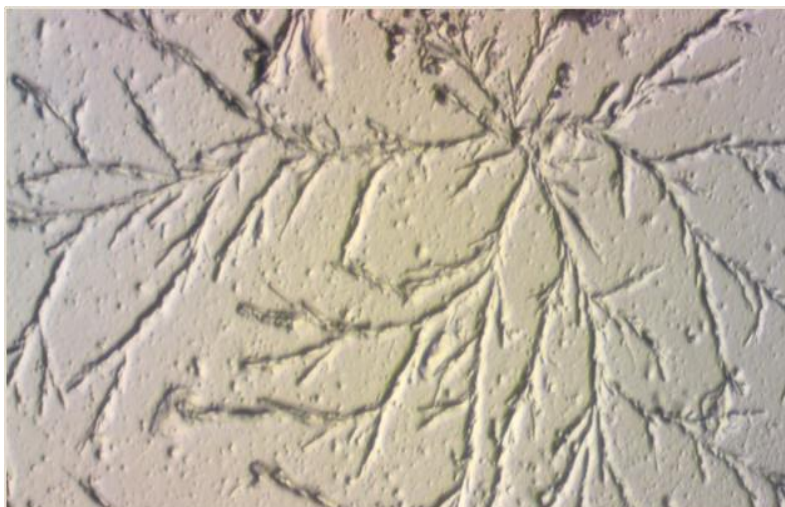
Istraživanje, koje je provedeno na 81 ispitaniku, pripadnicima oba spola, pokazalo je da stimulacije protoka imaju utjecaj na pojavu kristala u slini (21). U tom istraživanju nije se gledala količina papratizacije ili izgled kristala nego samo da li je paprat prisutna u nativnom preparatu sline. Papratizacija je bila vidljiva u 73 % uzoraka u oba spola. Kod ispitanika s pozitivnim nalazom paprati u nestimuliranim uzorcima (slika 6.) njih 67 % ima vidljivu paprat i u uzorcima uzetim 2 sata nakon stimulacije (slika 7.). Uzorci stimulirane sline pokazuju znakove kristalizacije ali bez prisutnog crteža paprati (slika 8. i 9.).



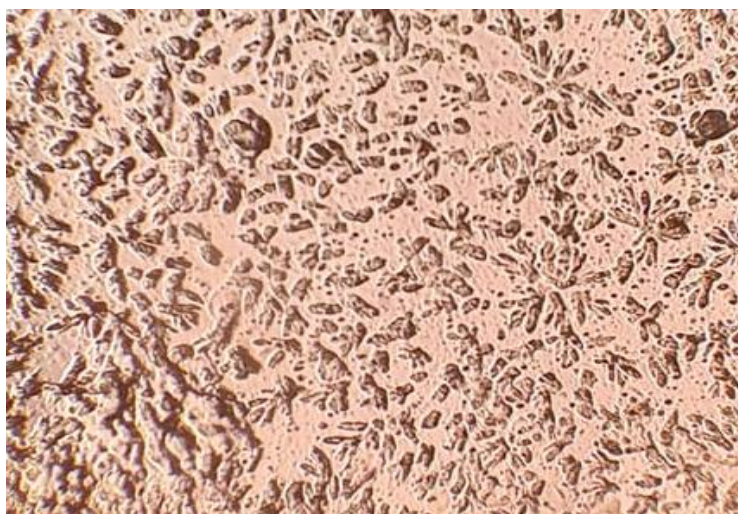
Slika 6. Nativni preparat nestimulirane sline, uvećanje 60 x, svjetlosni mikroskop. Vidljiva je potpuna kristalizacija sline u obliku paprati ( papratizacija). Preuzeto dopuštenjem autora: dr. sc. Iva Marolt Banek.



Slika 7. Nativni preparat sline 2 sata nakon stimulacije, uvećanje 60 x, svjetlosni mikroskop. U preparati su vidljivi kristali u obliku paprati, ali i nepravilnih formi. Preuzeto dopuštenjem autora: dr. sc. Iva Marolt Banek.



Slika 8. Nativni preparat stimulirane sline, uvećanje 60 x, svjetlosni mikroskop. Stimulacija salivacije provodila se žvakanjem parafinskog voska kroz 5 minuta. U preparatu je prisutna kristalizacija ali nije u obliku paprati nego je dendritičke forme. Preuzeto s dopuštenjem autora: dr. sc. Iva Marolt Banek.



Slika 9. Nativni preparat stimulirane sline, uvećanje 70 x, svjetlosni mikroskop. Stimulacija salivacije provodila se žvakanjem parafinskog voska kroz 5 minuta. U preparatu je prisutna kristalizacija kubične forme. Preuzeto s dopuštenjem autora: dr. sc. Iva Marolt Banek.

### 2.3. SPOL

Kod žena je istražena veza cikličkih promjena estrogena i pojave paprati u slini s ciljem praćenja plodnih dana. Učinak estrogena zapravo je posljedica njegovog djelovanja na aldosteron (8).

Kristali nalik na paprat vidljivi su u preparatima sline kod oba spola. Kod žena, kao i kod muškaraca, kristali nalik na paprat nastaju kao posljedica smanjenog utjecaja aldosterona na reapsorpciju Na i Cl iona u izvodnim kanalima žlijezda slinovnica. Za razliku od estrogena, spolnog hormona u žene, testosteron nema cikličkih promjena u lučenju (5). Kod muškaraca papratizacija je posljedica djelovanja drugih fizioloških mehanizama kao što je koncentracija kalija u plazmi te koncentracija angiotenzina II koja je regulirana unosom soli i vrijednostima krvnog tlaka (24, 25). Istraživanje, koje su proveli znanstvenici s HearshMath instituta na ispitanicima nakon potresa jačine 7.7 Richtera, pokazalo je da i različita emotivna stanja te stres kod osobe mogu utjecati na pojavu paprati u slini (26).

Kod muških osoba na preparatima sline može se vidjeti puna forma paprati kao i kod osoba ženskog spola u ovulaciji (slika 10.), njezini prijelazni oblici (slika 11.), a može i izostati crtež paprati (slika 12.).



Slika 10. Nativni preparat sline muške osobe, uvećanje 60 x, svjetlosni mikroskop. Cijelo vidno polje ispunjeno je pravilnim kristalima u obliku paprati. Preuzeto dopuštenjem autora: dr. sc. Iva Marolt Banek.



Slika 11. Nativni preparat sline muške osobe, uvećanje 60 x, svjetlosni mikroskop. Cijelo vidno polje ispunjeno je, ali su ponegdje nepravilnog oblika kristalima u obliku paprati. Preuzeto dopuštenjem autora: dr. sc. Iva Marolt Banek.



Slika 12. Nativni preparat sline muške osobe, uvećanje 60 x, svjetlosni mikroskop. U vidnom polju nema kristala. Preuzeto dopuštenjem autora: dr. sc. Iva Marolt Banek.

## 2.4. MIŠIĆNI RAD

Mišićni rad je metabolički složen proces prilikom kojeg se troše metaboliti, oslobađa toplinska energija i nastaju nusprodukti te je održavanje acidobazne ravnoteže, volumena i sastava tjelesnih tekućina nužno za normalnu funkciju organizma u naporu karakteriziranog povećanim mišićnim radom utječe na rad i drugih organskih sustava (27). Značajne fiziološke promjene se registriraju i u promjenama u prometu tjelesnih tekućina i elektrolita. Kao posljedica povećane simpatičke aktivnosti i potrošnje kisika u mišićnom radu dolazi do povećanja srčanog minutnog volumena i plućne ventilacije. Simpatikus isto tako izravno utječe i na žlijezde slinovnice povećavajući izlučivanje sline, a brojni metabolički procesi u mišićnom radu podižu koncentraciju aldosterona, kako bi se u bubrežnim kanalicima povećala reapsorpcija iona Na i Cl (5).

Pri pretraživanju literature, nisu pronađeni podatci vezani za papratizaciju sline, ali postoje istraživanja koja govore o promjeni sastava sline. Pa su tako tijekom vježbanja zabilježene povišene koncentracije proteina u slini što možemo povezati s pojačanom aktivnosti simpatičkog živčanog sustava koji dovodi do stvaranja koncentriranog sekreta sline bogatog proteinima vezanjem noradrenalina za beta adrenergične receptore čime dolazi do povećane razine cAMP što dovodi pojačane sekrecije proteina u slini (5,8). Povećanu koncentraciju proteina u slini pri mišićnome radu potvrđuje i istraživanje koje su proveli Ben-Aryeh i suradnici gdje su utvrdili da su vrijednosti koncentracije proteina u slini prije vježbanja bile  $138.53 \pm 72.33$  mg/dL, dok se poslije vježbanja one povisuju na vrijednost od  $224.61 \pm 121.18$  mg/dL (28). Nađene su i povišene vrijednosti iona Na u slini nakon vježbanja. U radu koje su proveli Chicharro i suradnici, razina iona Na porasla je s vrijednosti od 376.32 ppm (16.35 mmol/l) na vrijednost od 836.17 ppm (36.36 mmol/l) (29). S obzirom na to da je pojava paprati u slini posljedica interakcije elektrolita s mucinom, a nakon vježbanja su dokazane povišene koncentracije iona Na i mucina, unatoč povišenoj koncentraciji aldosterona, možemo pretpostaviti da će se kristali paprati u slini javljati tijekom i nakon mišićnog rada. Također, povišene koncentracije mucina mogu dijelom objasniti i pojavu guste sline nakon vježbanja (30).

Iako nisu pronađeni podatci o kristalizaciji sline tijekom vježbanja pronađen je podatak da povećana fizička aktivnost ima utjecaja na stvaranje kristala u slini. Istraživanje, koje su proveli Zvir i suradnici na 70 ispitanika, ispitalo je povezanost pojave crteži paprati s razinom fizičke



aktivnosti osobe. Rezultati su pokazali da je izraženiji crtež paprati vidljiv kod fizički aktivnijih studenata dok kod onih manje aktivnih on izostaje (31).

## 2.5. PATOLOŠKA STANJA

Slina kao lagano dostupna tjelesna tekućina i test papratizacije kao jeftina i lagano izvediva metoda mogla bi se koristiti i u dijagnostici nekih bolesti i stanja gdje su povišeni ionski parametri Na i Cl u slini te koncentracije proteina u slini, kao na primjer za Sjogrenov sindrom i cističnu fibrozu.

Sjogrenov sindrom je kronična autoimuna bolest nepoznate etiologije koju karakterizira suhoća usne šupljine i očiju uzrokovana destrukcijom žlijezda slinovnica i suznih žlijezda (4). U slini osoba oboljelih od Sjogrenova sindroma pronađene su više koncentracije Na i Cl te povišene koncentracije proteina. Istraživanje Kalka i suradnika navodi koncentraciju proteina u stimuliranoj slini u vrijednosti od 0.6 g/L kod zdravih ispitanika dok je ta vrijednost kod osoba oboljelih od Sjogrenova sindroma 1.2 g/L (31) (32). Stuchell i suradnici u svom istraživanju dokazuju 3 puta veće koncentracije iona Na i Cl u slini osoba koje boluju od primarnog Sjogrenovog sindroma u odnosu na njihovu koncentraciju kod zdravih ispitanika (33). Te dvije povišene komponente u slini uvjeti su za pojavu kristalizacije u obliku paprati. Test lakrimalne papratizacije, uz mjerenje protoka stimulirane i nestimulirane sline, koristi se u klinici u dijagnostici Sjogrenova sindroma, ali neka istraživanja navode da bi test papratizacije bilo moguće napraviti i koristeći se slinom i da bi ta metoda bila dobra kao metoda probira bolesnika (34, 35).

Cistična fibroza je nasljedna bolest egzokrinih žlijezda. Kod nje dolazi do mutacije CFTR (eng. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) gena zbog čega dolazi do poremećene funkcije kloridnih kanala i time dolazi do povišene koncentracije kloridnih iona u sekretu egzokrinih žlijezda, među ostalim u suzama, slini i znoju tako da je zlatni standard u dijagnostici cistične fibroze mjerenje koncentracije kloridnih iona u znoju (36). Kako do poremećene funkcije kloridnih iona dolazi i u žlijezdama slinovnicama, istraživanja su provedena kako bi se utvrdile promjene u koncentracijama Na i Cl iona u slini oboljelih od cistične fibroze te time ispitala mogućnost dijagnosticiranja cistične fibroze putem sline. U istraživanju koje su proveli Goncalves i suradnici zabilježene su povišene vrijednosti Na i Cl iona u slini kod oboljelih od cistične fibroze u odnosu na zdravu populaciju (37). Baros da Silva Modesto i suradnici provode istraživanje u kojem dokazuju čak 180 % povećanje koncentracije ukupnih proteina sline kod djece oboljele od

cistične fibroze u odnosu na zdrave ispitanike (38). Te povišene vrijednosti proteina i iona mogle bi dovesti do formiranja kristala oblika paprati u nativnom preparatu sline.



U nativnom preparatu sline sušenom na sobnoj temperaturi i promatranom svjetlosnim mikroskopom možemo uočiti različite forme kristala. Kristali mogu prekrivati cijeli preparat i biti u formi paprati. Ta se pojava naziva papratizacija (eng. ferning). Također, kristali mogu biti i u drugim formama, npr. kubičnim ili dendritičnim (13).

Za pojavu kristala u obliku paprati u slini potrebna je optimalna koncentracija Na i Cl iona u slini te mucina. Na koncentraciju Na i Cl iona u slini najveći utjecaj ima aldosteron, hormon nadbubrežne žlijezde, dok koncentracija mucina ovisi o stupnju podraživosti autonomnog živčanog sustava. Kod uzoraka stimulirane sline, iako su koncentracije Na i Cl iona više nego u nestimuliranoj, zbog manje koncentracije proteina (mucina) izostaje karakterističan crtež paprati ali možemo vidjeti kristale drugih oblika (21).

Najveći dio radova bavi se povezanošću pojave paprati i estrogena u perioovulatornom razdoblju. Do papratizacije dolazi zbog povišenja koncentracije estrogena neposredno prije ovulacije, tj. njegovog utjecaja na aldosteron. Aldosteron je hormon koji utječe na reapsorpciju Na i Cl iona u kanalima žlijezda slinovnica, tj. njegovo smanjeno djelovanje povećava koncentraciju Na i Cl iona u slini zbog smanjenja njihove reapsorpcije. Estrogen fiziološki smanjuje koncentraciju aldosterona (5). Pojavu paprati pred ovulaciju u slini ne nalazimo samo kod ljudi, nego i kod životinja, a ujedno nalazimo i u drugim tjelesnim tekućinama kao što je cervikalna sluz (39 – 41). Zbog toga se papratizacija u slini navodi kao jedna od metoda prirodnog planiranja obitelji (eng. Natural Family Planning) uz praćenje bazalne temperature, kontrole cervikalne sluzi i ostalih metoda (3). Na tržištu se mogu naći brojni mini mikroskopi razvijeni upravo za ovu svrhu. Prednost takve metode bi bila njena jednostavnost i ekonomičnost te mogućnost da žena samostalno prati svoje plodne dane.

Ipak, ta metoda nije dovoljno pouzdana i specifična iz razloga što papratizaciju u slini nalazimo i u stanjima nevezanim za visoku razinu estrogena te tako ona nastaje kod žena i u drugim dijelovima spolnog ciklusa, a ne samo neposredno prije ovulacije. Također, kristalizacija u obliku paprati u slini nije karakteristična samo za ženski spol, već je nalazimo i kod osoba muškog spola što nam govori o mnogo većem broju faktora koji utječu na njenu pojavu, a koju možemo povezati s promjenom u sastavu sline. Promjena u sastavu sline događa se u mnogim fiziološkim stanjima kao što je mišićni rad te ostalim stanjima koji utječu na simpatički i parasimpatički živčani sustav. Osim toga promjene u sastavu sline pojavljuje se i u nekim patološkim stanjima.



Pojava kristala u slini vezana je za sastav sline tj. međudjelovanje iona Na i Cl sa proteinima (mucinom). Kada je koncentracija iona Na i Cl u slini visoka uz prisustvo mucina, kao kod žena u periovulatornom razdoblju, dolazi do kristalizacije sline u obliku paprati. Kada je koncentracija iona Na i Cl visoka, ali bez popratne visoke koncentracije mucina, kao kod povećanog protoka u stimulaciji lučenja sline, pojavljuju se kristali drugih oblika koji ne zauzimaju tipičnu formu paprati. Kako teško možemo utjecati na stimulaciju salivacije, koju možemo potaknuti samim mirisom i razmišljanjem o hrani, slika kristala paprati u slini može izostati. S druge strane, druga fiziološka stanja, osim visoke razine estrogena, mogu dovesti do pojave crteža paprati u slini pa se tako, zbog visoke nespecifičnosti u njihovom javljanju, kristali u obliku paprati u slini ne smatraju dovoljno pouzdanom metodom koja bi se mogla koristiti ni u praćenju plodnih dana ni kao metoda probira bolesnika kod nekih bolesti.

## **5. LITERATURA**

1. Andabak Rogulj A, Bakale Rogulj I, Mravak Stipetić M. Slina – dijagnostički medij za rano otkrivanje bolesti. *Medix*. 2011;VIII(96)
2. Nunes LAS, Brenzikofer R, Macedo DV. Reference intervals for saliva analytes collected by a standardized method in a physically active population. *Clin Biochem* [Internet]. 2011;44(17–18):1440–4. Available from:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2011.09.012>
3. Fehring RJ. *Current Medical Research Winter/Spring 2016†*. *Linacre Q*. 2016;83(3):346–59.
4. Cekić-Arambašin A, Vidas I, Topić B, Alajbeg I, Vučićević Boras V, BiočinaLukenda D, Glažar I, Maričić D. *Oralna Medicina*. Zagreb: Školska knjiga;2005;280
5. Guyton AC, Hall JE. *Sekrecijske funkcije probavnog sustava*. U: Guyton AC, Hall JE. *Medicinska fiziologija*. 10. izdanje, Zagreb: Medicinska naklada;2003;791-807
6. Carpenter GH. The Secretion, Components, and Properties of Saliva. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2013;4(1):267–76.
7. Holmberg K V., Hoffman MP. *Anatomy, biogenesis and regeneration of salivary glands*. *Monogr Oral Sci*. 2014;24:1–13.
8. Boron W, Boulpaep E. *Medical physiology*. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2012.
9. PAPANICOLAOU GN. A general survey of the vaginal smear and its use in research and diagnosis. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 1946;51(3):316–28. Available from:  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9378\(16\)40012-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9378(16)40012-8)
10. Vasilios Theodoros HM. The Detection of a Salivary Ferning Pattern Using the Knowhen Ovulation Monitoring System as an Indication of Ovulation. *J Womens Heal Care*. 2015;04(03):3–5.
11. Saibaba G, Srinivasan M, Priya Aarthy A, Silambarasan V, Archunan G. Ultrastructural and physico-chemical characterization of saliva during menstrual cycle in perspective of ovulation in human. *Drug Discov Ther*. 2017;11(2):91–7.



12. 2. Macova M, Armando I, Zhou J, Baiardi G, Tyurmin D, Larrayoz-Roldan I et al. Estrogen Reduces Aldosterone, Upregulates Adrenal Angiotensin II AT<sub>2</sub> Receptors and Normalizes Adrenomedullary Fra-2 in Ovariectomized Rats. *Neuroendocrinology*. 2008;88(4):276-286.
13. Lee E, Kim I, Nam H, Jeon H, Lim G. Modulation of saliva pattern and accurate detection of ovulation using an electrolyte pre-deposition-based method: A pilot study. *Analyst*. 2020;145(5):1716–23.
14. Archunan G, Saibaba G, Alagendran S, Muthukumar S, Rajkumar R, Guzman R. Characterization of salivary protein during ovulatory phase of menstrual cycle through MALDI-TOF/MS. *Indian Journal of Dental Research*. 2013;24(2):157.
15. Magno B, Dee M. Salivary ferning as an alternative to sonographic follicle monitoring for determining ovulation: A comparative study. *PJOG*. 2016;40(2).
16. Guida M, Barbato M, Bruno P, Lauro G, Lampariello C. Salivary ferning and the menstrual cycle in women. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 1993; 48-54.
17. Patel DK, Prajapati DG. Study the accuracy of salivary ferning test as a predictor of ovulation. *Int J Reprod Contraception, Obstet Gynecol*. 2018;7(7):2699.
18. Guida M, Tommaselli GA, Palomba S, Pellicano M, Moccia G, Di Carlo C, et al. Efficacy of methods for determining ovulation in a natural family planning program. *Fertil Steril*. 1999;72(5):900–4.
19. Braat DDM, Smeenk MJM, Manger AP, Thomas CMG, Veersema S, Merkus JMWM. Saliva test as ovulation predictor. *Lancet*. 1998;352(9136):1283–4.
20. Salmassi A, Schmutzler AG, Püngel F, Schubert M, Alkatout I, Mettler L. Ovulation detection in Saliva, is it possible? *Gynecol Obstet Invest*. 2013;76(3):171–6.
21. Marolt Banek I, Radovčić A, Roša J. Impact of salivary flow stimulation on salivary ferning. Poster presented at: 13th Annual Symposium of the Croatian Physiological Society with international participation. September 18.-19., 2019. Osijek, Croatia.
22. Humphrey SP, Williamson RT. *Saliva Review*. Pdf. 2001;85(2).

23. Rayment SA, Liu B, Soares R V., Offner GD, Oppenheim FG, Troxler RF. The effects of duration and intensity of stimulation on total protein and mucin concentrations in resting and stimulated whole saliva. *J Dent Res.* 2001;80(6):1584–7.
24. McDonough AA, Youn JH. Potassium homeostasis: The knowns, the unknowns, and the health benefits. *Physiology.* 2017;32(2):100–11.
25. Stowasser M, Ahmed AH, Pimenta E, Taylor PJ, Gordon RD, Hypertension E, et al. Factors Affecting the Aldosterone / Renin Ratio. *Horm Metab Res.* 2012;44:170–6.
26. Heart Coherence Increases Order of Crystallization Patterns in Dried Saliva - HeartMath Institute [Internet]. HeartMath Institute. 2020 [cited 2 July 2020]. Available from: [https://www.heartmath.org/gci-commentaries/heart-coherence-increases-order-of-crystallization-patterns-in-dried-saliva/?fbclid=IwAR1V84O4YBwtRd\\_iUXrJQjADp0vI1MdrVzASxkbZdD298rgWGUMvoQxUYsQ](https://www.heartmath.org/gci-commentaries/heart-coherence-increases-order-of-crystallization-patterns-in-dried-saliva/?fbclid=IwAR1V84O4YBwtRd_iUXrJQjADp0vI1MdrVzASxkbZdD298rgWGUMvoQxUYsQ)
27. Beritić-Stahuljak D et al. (1999) *Medicina rada.* Zagreb: Medicinska naklada.
28. Ben-Aryeh H, Roll N, Lahav M, Dlin R, Hanne-Paparo N, Szargel R, et al. Effect of Exercise on Salivary Composition and Cortisol in Serum and Saliva in Man. *J Dent Res.* 1989;68(11):1495–7.
29. Chicharro JL, Serrano V, Ureña R, Gutierrez AM, Carvajal A, Fernández-Hernando P, et al. Trace elements and electrolytes in human resting mixed saliva after exercise. *Br J Sports Med.* 1999;33(3):204–7.
30. Ligtenberg A, Liem E, Brand H, Veerman E. The Effect of Exercise on Salivary Viscosity. *Diagnostics.* 2016;6(4):40.
31. Zvir M, Beliak A, Pohoretska Y, Savytska M, Zayachkivska O. The Relationship of Saliva Microcrystalline Characterization and Contractile Duration of Skeletal Muscle in Medical Students 1. 2017;1(1).
32. Kalk WWI, Vissink A, Spijkervet FKL, Bootsma H, Kallenberg CGM, Nieuw Amerongen A V. Sialometry and sialochemistry: Diagnostic tools for Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2001;60(12):1110–6.

33. Stuchell RN, Mandki ID, Baukmasii H. Clinical utilization of sialochemistry in Sjögren's syndrome. *J Oral Pathol Med.* 1984;13(3):303–9.
34. Maragou M, Vaikousis E, Ntre A, Koronis N, Georgiou P, Hatzidimitriou E, et al. Tear and saliva ferning tests in sjögren's syndrome (SS). *Clin Rheumatol.* 1996;15(2):125–32.
35. El-Miedany YM, El-Hady SM, El-Baddin MA. Validity of the saliva ferning test for the diagnosis of dry mouth in Sjogren's syndrome. *Rev du Rhum (English Ed.* 1999; 73-8.
36. Zeitlin PL, Diener-West M, Rubenstein RC, Boyle MP, Lee CKK, Brass-Ernst L. Evidence of CFTR function in cystic fibrosis after systemic administration of 4-phenylbutyrate. *Mol Ther.* 2002;6(1):119–26.
37. Gonçalves AC, Marson FAL, Mendonça RMH, Bertuzzo CS, Paschoal IA, Ribeiro JD, et al. Chloride and sodium ion concentrations in saliva and sweat as a method to diagnose cystic fibrosis. *J Pediatr (Rio J).* 2019;95(4):443–50.
38. Archunan G, Saibaba G, Alagendran S, Muthukumar S, Rajkumar R, Guzman R. Characterization of salivary protein during ovulatory phase of menstrual cycle through MALDI-TOF/MS. *Indian Journal of Dental Research.* 2013;24(2):157.
39. Pardo-Carmona B, Moyano MR, Fernández-Palacios R, Pérez-Marín CC. Saliva crystallisation as a means of determining optimal mating time in bitches. *J Small Anim Pract.* 2010;437-42.
40. Ravinder R, Kaipa O, Baddela VS, Singhal Sinha E, Singh P, Nayan V, et al. Saliva ferning, an unorthodox estrus detection method in water buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology.* 2016;1147-55.
41. Ceric F, Silva D, Vigil P. Ultrastructure of the human periovulatory cervical mucus. *J Electron Microsc (Tokyo).* 2005;54(5):479–84.

## **6. ŽIVOTOPIS**

Ana Radovčić rođena je 1. lipnja 1995. u Zagrebu. Završava VII. gimnaziju u Zagrebu, a 2014. godine upisuje Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Za vrijeme studiranja bila je demonstrator na katedri za fiziologiju Stomatološkog fakulteta. Kao studentica sudjelovala je na 13. godišnjem simpoziju Hrvatskog društva fiziologa s međunarodnim sudjelovanjem gdje je predstavila poster prezentaciju pod naslovom „Impact of salivary flow stimulation on salivary ferning“. Na Simpoziju studenata dentalne medicine sudjeluje kao voditelj radionice.