

Vrijednosti salivarne peroksidaze u nestimuliranoj i stimuliranoj ukupnoj slini studenata stomatologije

Vanja Vučićević-Boras¹
Berislav Topić¹
Ana Cekić-Arambašin¹
Ana Stavljenić-Rukavina²
Renata Zadro²
Tamara Devčić²

¹Zavod za oralnu medicinu
Stomatološkog fakulteta
Sveučilišta u Zagrebu
²Hematološki laboratorij
Klinički bolnički centar
"Rebro", Zagreb

Sažetak

U 28 studenata pokušali smo odrediti vrijednosti salivarne peroksidaze, razlike između vrijednosti salivarne peroksidaze između nestimulirane i stimulirane ukupne sline, i razlike među spolovima. Rezultati našeg ispitivanja pokazuju da ne postoje statistički znatne razlike u količini salivarne peroksidaze između nestimulirane i stimulirane ukupne sline u ispitanika obaju spolova.

Ključne riječi: salivarna peroksidaza, slina.

Acta Stomat Croat
2001; 353-356

IZVORNI ZNANSTVENI
RAD

Primljeno: 15. studenoga 2000.

Adresa za dopisivanje:

Vanja Vučićević-Boras
Zavod za oralnu medicinu
Stomatološki fakultet
Gundulićeva 5, 10000 Zagreb
E-mail: vvboras@hotmail.com
Tel: 01 / 4802 124
Fax: 01 / 4802 159

Uvod

Slina je esencijalna tjelesna tekućina potrebna za održavanje ekološke ravnoteže u usnoj šupljini. Ljudska ukupna slina sastoji se od dvaju sustava peroksidaze koji se drže važnim čimbenicima obrane u usnoj šupljini. Velike žlijezde slinovnice luče salivarnu peroksidazu koja je strukturno različita ali katalitički prilično slična laktoperoksidazi kravljega mlijeka (1). Oralni polimorfonuklearni leukociti otpuštaju mijeloperoksidazu u gingivalnu tekućinu i ukupnu slinu u količini koja je proporcionalna stupnju upale gingive (2). Sustav salivarne peroksidaze (SP) jedan je od neimunoglobulinskih obrambenih sustava u slini. Sastavljen

je od enzima salivarne peroksidaze, tiocijanata (SCN) i hidrogen peroksida (H_2O_2). Salivarna peroksidaza može reverzibilno inhibirati bakterijske enzime i prijenosne sustave oksidacijom proteinskih sulfhirilnih skupina (s produljenom inkubacijom taj učinak može postati ireverzibilan). Vrlo niske koncentracije HOSCN/OSCN pokazale su se učinkovite u eliminaciji virusa koji se prenose oralno, kao što su herpes simplex 1, respiratorni sincicijski virus, echovirus tip 11 i HIV (3-5). Svrha našega ispitivanja bila je odrediti moguće razlike u količini salivarne peroksidaze između nestimulirane i stimulirane ukupne sline mladih i zdravih odraslih ljudi i moguće razlike među spolovima.

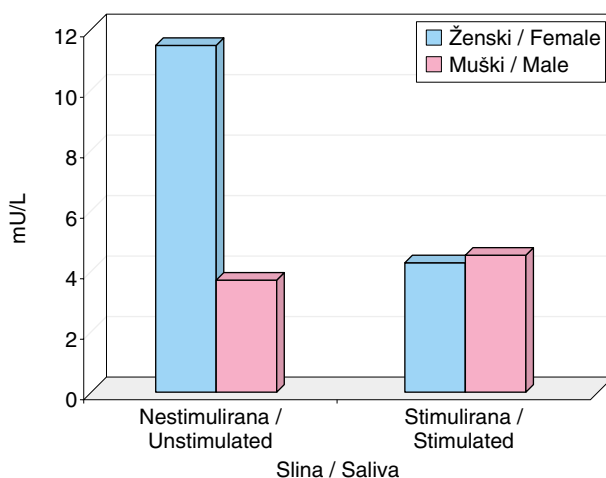
Ispitanici i postupci

Skupina od 28 studenata pete godine stomatologije uzeta je za potrebe ovog ispitivanja. Raspon dobi je 23-27, srednja vrijednost je 25 godina. Ni jedan od ispitanika nije bolovao od sustavnih bolesti, te su imali zdrave oralne sluznice. Kvantifikacija sline određena je dvjema vrstama mjerenja između 8 i 11 sati ujutro. Nestimulirana ukupna slina dobila se je izbacivanjem skupljene sline u kalibrirane epruvete (0,1 ml) tijekom pet minuta. Stimulirana slina dobivena je pošto su ispitanici popili 1% otopinu askorbinske kiseline (1g otopljen u 1dcl vode) i zatim izbacivali slinu u kalibriranu epruvetu sljedećih pet minuta. Rezultati su izraženi po jednoj minuti. Uzorci sline su centrifugirani (800 okretaja) tijekom deset minuta i potom zamrznuti na -20°C (6). Vrijednosti salivarne peroksidaze napravljene su po metodi Putter i Becker (7). Reagensi koji su se rabili za raščlambu su 20 mM 2,2 azino-di-(3-etil-benzotiazolin-(6)-sulfonska kiselina) diamonijeva sol (ABTS) u 67 mM fosfatnog pufera pH vrijednosti 6,0 i 10 mM hidrogen peroksida i peroksidaze u količini od 250 J/kg. Analiza je temeljena na 0,5 ml uzorka sline koji je razrijeđen sa 1,5 ml fosfatnog pufera pH vrijednosti 6,0. Reaktivna se je smjesa sastojala od 2 ml razrijeđena uzorka sline, 0,2 ml otopine ABTS i 0,2 ml hidrogen peroksida koji su pomiješani u reaktivnoj kiveti i stavljeni u spektrofotometar valne dužine od 405 nm i temperature od 25°C . Apsorbanca je pročitana nakon jedne minute i šest minuta s reagensom kao slijepim pokusom. Razlika apsorbance ($\Delta T = 5$ min) korištena je da bi se očitavale aktivnosti peroksidaze u slini iz kalibrirane krivulje. Kalibrirana je krivulja napravljena iz osnovne otopine peroksidaze (2500J/ml) u 6 razrjeđenja koja sadrže 5, 10, 15, 20, 30, 50 J/ml. Prema već opisanom postupku

razlika apsorbance je mjerena za svaki uzorak u duplikatu i napravljena je kalibrirana krivulja a. Statistička raščlamba napravljena je Studentovim t testom.

Rezultati

Slika 1 pokazuje vrijednosti salivarne peroksidaze u nestimuliranoj i stimuliranoj ukupnoj slini ispitanika.



Slika 1. Vrijednosti salivarne peroksidaze u nestimuliranoj i stimuliranoj ukupnoj slini ispitanika

Figure 1. Salivary peroxidase values in unstimulated and stimulated whole saliva in female and male subjects

Tablica 1 pokazuje vrijednosti salivarne peroksidaze u naših ispitanika.

Tablica 2 pokazuje vrijednosti salivarne peroksidaze dobivene u drugim studijama.

Tablica 1. Prikaz prosječnih vrijednosti i rezultata testiranja vrijednosti salivarne peroksidaze u nestimuliranoj i stimuliranoj ukupnoj slini ispitanika

Table 1. Average values and results of salivary peroxidase values in unstimulated and stimulated whole saliva of subjects

	Broj ispitanika / Number of participants n	Nestimulirana / Unstimulated $\bar{X} \pm Sd$	Stimulirana / Stimulated $\bar{X} \pm Sd$	t-test	p
Svi / Total	28	9.92 ± 18.4	4.42 ± 5.67	1.51	n.s.
Ženski / Female	23	11.28 ± 20.08	4.36 ± 5.58	0.4	n.s.
Muški / Male	5	3.65 ± 2.82	4.7 ± 6.73	0.9	n.s.

Tablica 2. Vrijednosti salivarne peroksidaze dobivene u drugim studijama

Table 2. Salivary peroxidase values determined in other studies

Mansson-Rehemtulla	2.6±1.6 µg/ml
Thomas et al. 1994	1.9±1.0 µg/ml
Rudney et al. 1989	5.0±2.86 µg/ml
Kirstila et al. 1996	2.1±0.7 mU
Grahn et al. 1988	0.51±1.92 mU

Rasprava i zaključak

SP i SCN su normalne sastavnice ljudske sline. Enzim sintetiziraju i luče žlijezde slinovnice, dok se SCN koncentrira u slinovnicama iz seruma i posljedično izlučuje. H₂O₂ je deriviran iz bakterijskog i leukocitnog metabolizma. U slini SP katalizira oksidaciju SCN kako bi se stvorila hipotiocijanatna kiselina (HOSCN) i hipotiocijanatni anion (OSCN). Ta reakcija važna je za domaćina jer HOSCN i SCN inhibiraju rast i metabolizam raznih vrsta patogena. Zajedno s protumikrobnim svojstvima sustav salivarne peroksidaze također štiti stanice domaćina od toksičnosti hidrogena peroksida (8, 9).

Prijašnja istraživanja daju oprečne rezultate vrijednosti salivarne peroksidaze u zdravih ispitanika u stimuliranoj slini, pa se porast aktivnosti toga enzima objašnjava povećanim lučenjem sline koje nastaje nakon stimulacije žlijezde (10-13). Nasuprot tomu protumikrobni učinak salivarne peroksidaze znatno je snižen u stimuliranoj slini u usporedbi s nestimuliranom, te je dokazana najjača aktivnost toga enzima noću (14, 15). Rezultati ovog ispitivanja pokazuju da nema razlika u količini salivarne peroksidaze u nestimuliranoj i stimuliranoj ukupnoj slini u zdravih mladih pojedinaca. Isto tako ne postoje znatne razlike u količini salivarne peroksidaze s obzirom na spol bilo u nestimuliranoj bilo u stimuliranoj slini ispitanika.

Laine i sur. (16) su ustanovili da su se vrijednosti salivarne peroksidaze znatno povisile za vrijeme trećega trimestra trudnoće i njihovi rezultati upozoravaju na povezanost toga enzima i hormona estrogena.

U literaturi postoje različiti izvještaji o vrijednostima salivarne peroksidaze u sustavnim bo-

lestima. Ryberg i sur. (17) su pak našli snižene vrijednosti salivarne peroksidaze u stimuliranoj slini astmatičara u usporedbi s kontrolnom skupinom, a Lenander-Lumikari i sur. (18) dobili su nepromijenjene vrijednosti salivarne peroksidaze u stimuliranoj slini bolesnika s astmom i kontrolne skupine. Mansson-Rahemtulla i sur. (19) su u nestimuliranoj slini oboljelih od leukemije dobili povišene vrijednosti salivarne peroksidaze u usporedbi s kontrolnom skupinom. Sundh i sur. (20) nisu pronašli razlike u količini salivarne peroksidaze u bolesnika oboljelih od Crohnove bolesti i kontrolne skupine. Povišene vrijednosti salivarne peroksidaze u stimuliranoj slini dijabetičara dokazuje Guven i sur. (21) u odnosu prema kontrolnoj skupini. Nederfors i sur. (22) nisu našli razlike u količini salivarne peroksidaze između bolesnika koji uzimaju antihipertenziv kaptopril i kontrolne skupine.

S obzirom na različitost nalaza vrijednosti salivarne peroksidaze postoji potreba da se na većem uzorku ustanove referentne vrijednosti.

Literatura

1. MANSSON-RAHEMTULLA B, RAHEMTULLA F, BALDONE DC, PRUITT KM, HJERPE A. Purification and characterization of human salivary peroxidase. *Biochemistry* 1988; 27: 233-9.
2. MANSSON-RAHEMTULLA B, BALDONE DC, PRUITT KM, RAHEMTULLA F. Specific assays for peroxidases in human saliva. *Archs Oral Biol* 1986; 31: 661-8.
3. CAO C, SMITH QT. Crevicular fluid myeloperoxidase at healthy, gingivitis and periodontitis sites. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 17-20.
4. KIRSTILA V, LENANDER-LUMIKARI M, SODERLING E, TENOVUO J. Effects of oral hygiene products containing lactoperoxidase, lysozyme, and lactoferrin on the composition of whole saliva and on subjective oral symptoms in patients with xerostomia. *Acta Odontol Scand* 1996; 54: 391-7.
5. NAVAZESH M, CHRISTENSEN C, BRIGHTMAN V. Clinical Criteria for the diagnosis of salivary gland hypofunction. *J Dent Res* 1992; 71: 1363-9.
6. THOMAS EL, PERA KA, SMITH KW, CHWANG AK. Inhibition of *Streptococcus mutans* by the lactoperoxidase antimicrobial system. *Infect Immun* 1983; 39: 767-78.
7. PUTTER J, BECKER R. Peroxidases. In: Bergmeyer HU. *Methods in Enzymatic Analysis*. Weinheim: Verlag Chemie 1983; 286-92.
8. CARLSSON J. Salivary peroxidase: an important part of our defense against oxygen toxicity. *J Oral Pathol* 1985; 16: 412-6.

9. PUTTER J, BECKER R. The lactoperoxidase system: chemistry and biological significance. In Pruitt KM, Tenovuo J eds, The lactoperoxidase system. New York: Marcel Dekker 1985; 143-78.
10. RUDNEY JD. Relationship between human parotid saliva lysozyme, lactoferin, salivary peroxidase and secretory IgA in large sample population. *Archs Oral Biol* 1989; 34: 499-504.
11. PRUITT KM, TENOVUO J, FLEMING W. Limiting factors for the generation of hypothiocyanate ion, an antimicrobial agent in humans. *Caries Res* 1982; 16: 315-23.
12. AZEN EA. Salivary peroxidase activity, thiocyanate concentration in human subjects and genetic variants of salivary peroxidase. *Archs Oral Biol* 1978; 23: 801-5.
13. TENOVUO J, PRUITT KM, THOMAS EL. Peroxidase antimicrobial system of human saliva, hypothiocyanate levels in resting and stimulated saliva. *J Dent Res* 1982; 61: 982-5.
14. RUDNEY JD, KRIEG A, NEUVAR EK, SOBERAY AH, IVERSON L. Antimicrobial proteins in human unstimulated whole saliva in relation to each other and to measures of health status, dental plaque accumulation and composition. *Archs Oral Biol* 1991; 36: 497-506.
15. BRANDTZAEG P. Human secretory immunoglobulins VII concentrations of parotid IgA and other secretory proteins in relation to the rate of flow and duration of secretory stimulus. *Archs Oral Biol* 1971; 16: 1295-1310.
16. LAINE M, TENOVUO J, LEHTONEN OP, OJANOTKO-HARRI A, VILJA P, TUOHIMA P. Pregnancy-related changes in human whole saliva. *Archs Oral Biol* 1988; 33: 913-7.
17. RYBERG M, MOLLER C, ERICSON T. Saliva composition and caries development in asthmatic patients treated with beta 2-adrenoceptor agonists: a 4-year follow up study. *Scand J Dent Res* 1991; 99: 212-8.
18. LENANDER-LUMIKARI M, LAURIKANENE K, KNU-SISTO P, VILJA P. Stimulated salivary flow rate and composition in asthmatic and non-asthmatic adults. *Archs Oral Biol* 1998; 43: 151-6.
19. MANSSON-RAHEMTULLA B, TECHANITISWAD T, RAHEMTULLA F, et al. Analysis of salivary components in leukemia patients receiving chemotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 73: 35-46.
20. SUNDH B, JOHANSSON I, EMILSON CG, NORDGARDEN S, BIRKHED D. salivary antimicrobial proteins in patients with Crohn's disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; 76: 564-9.
21. GUVEN Y, SATMAN I, DINCCAG N, ALPTEKIN S. Salivary peroxidase activity in whole saliva of patients with insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 879-81.
22. NEDERFORS T, DAHLOF C, ERICSSON T, TWETMAN S. Effects of the antihypertensive drug captopril on human salivary secretion rate and composition. *Eur J Oral Sci* 1995; 103: 351-4.