

Sülj uudsete teadusuuringute objektina

Stanislav Liskmann^{1,2}, Mihkel Zilmer², Tiiu Vihalemm² – ¹TÜ stomatoloogiakliinik, ²TÜ biokeemia instituut

sülj, oksüdatiivne stress, vabad radikaalid, hapniku reaktiivsed osakesed, antioksidandid, sülje antioksidantne mahtuvus

Sülj on heterogeenne suuõõne limaskestast ning hambaid ümbritsev vedelik, mis sisaldab glükoproteiine jt valke, elektrolüüte, väikesi orgaanilisi molekule ning verest pärinevaid komponente. Sülje töö puhastava lahuse, ionide reservuaari, lubrikandi ja puhvrina on hästi teada. Nüüdisajal on aga selgunud, et sülj on organismi esmane võimas dünaamiline kaitsebarjäär reaktiivsete osakeste põhjustatud ülemäärase oksüdatiivse stressi vastu, kuna mälumis- ja seedimisprotsessiga kaasnevad mitmesugused reaktsioonid, sh lipiidide peroksüdatsioon. Veelgi enam, igemepõletik suurendab igemetaskuvedeliku sekretsiooni, mis omakorda suurendab põletikuliste komponentide sisaldust süljes. Need omakorda võivad mängida teatud rolli oluliste oksükahjustuste tekkes ja progressioonis suuõõnes. See ongi põhjuseks, miks sülje kui esmase „kaitsekilbi“ antioksidantse kaitsevõime uurimisele pööratakse üha suuremat tähelepanu. See on viinud uutele seisukohtadele. Artiklis on analüüsitud, mida tähendavad vabad radikaalid, hapniku reaktiivsed osakesed, sülje pro-oksüdandid ja antioksidandid, ning selgitatud kaasaegseid meetodeid sülje antioksidantse mahtuvuse hindamiseks. Viimasel kümnendil on sülje antioksidantse mahtuvuse hindamiseks välja töötatud mitu meetodit, mis näitab nii uurijate kui ka kliinitsistide suurenevat huvi selle teema vastu. Kahjuks sülje süstemaatilised uuringud, sh rahvastiku-uuringuna, on praegu puudulikud.

Sülj tundub meile nii tavaline, et sellele pole päris pikka aega erilist kliinilist tähelepanu pööratud. Viimase aja uurimused näitavad vajadust sülje koosseisu ja mõnede selle biofunktsioonide oluliseks ümberhindamiseks (1). Normaalne sülj osutub oluliselt mitmekesisemaks ja võimsamaks kaitsebarjääriks, kui seni on arvatud. Süljevalkudel on avastatud biofunktsioone, mida siamaani ei teatud (2, 3, 4). Sülje antioksidantne süsteem on organismi seisukohalt, aga eriti just hammaste ja suuõõne haiguste arengu seisukohalt osutunud väga oluliseks.

Termin „täissülj“ tähendab sekreetide segu, mis pärineb suurtest süljenäärmetest (submandibulaarne, sublingvaalne, parootis) ning väikestest süljenäärmetest koos igemetaskuvedelikuga. Erinevate süljenäärmete sekreedid erinevad märkimisväärselt, nende sekretsioonile avaldavad mõju erinevad stimulatsioonid, aeg, dieet, vanus, sugu, erinevad haigusseisundid ning mitmesugused farmakoloogilised ained (3, 4). Osa sülje kogumast toodetakse vastusena stimulatsioonile, mis

on seotud mälumisega; umbes 60% toodetakse aga puhkeolekus (5, 6). Ühe ajal sülje eritumine suurtest süljenäärmetest praktiliselt lakkab (5). Sülje võib iseloomustada kui heterogeenset biovedelikku, mis koosneb lihtvalkudest, glükoproteiinidest, elektrolüütidest, väikestest orgaanilistest molekulidest ning verest transporditud komponentidest (7). Sülje valkude kontsentratsioon on umbes 3% valkude kontsentratsioonist plasmas, enamik neist on antibakteriaalsete omadustega (8). Sülje antibakteriaalsete valkude hulka kuuluvad nii sekretoorsed antikehad, eeskätt IgA, kui ka mitte-immunoglobuliinse loomusega valgud, nagu lüsotsüüm, laktoferrin, ning sülje peroksüdaasid (9). Sülj ümbritseb pidevalt hambaid ja katab suuõõne limaskestast, töötades puhastava lahuse, ionide reservuaari, lubrikandi ning puhvrina. Sülj hamba pinnal aitab ära hoida hambakatu hapetest tingitud demineralisatsiooni (5, 10, 11). Lisaks sellele moodustab sülj „omandatud kile“, pelliikuli, mis hamba pinnal on kaitsvaks kihiks.

Viimastel aastatel on tõestatud, et tasakaalu kestev häirimine hapniku reaktiivsete osakeste (HRO) ja vabade radikaalide (VR) ning antioksidantse süsteemi vahel on oluline mitme põletikulise protsessi tekkes ja arengus suuõones (12, 13). Mitmed ülevaated tõendavad oksukahjustusi parodontiidi korral ning esitavad andmeid antioksidantide terapeutilise efekti kohta. Vabad radikaalid / hapniku reaktiivsed osakesed suuõones pärinevad füsioloogiliselt peamiselt polümorfonukleaarsetest leukotsüütidest (PMN, *polymorphonuclear leucocytes*), mis osalevad ka bakterite kasvu kontrollis "oksüdatiivse purske" mehhanismi kaudu (14). Sellised füsioloogilised protsessid on tavaliselt efektiivselt tasakaalustatud integreeritud antioksidantse süsteemiga. Kui süsteemi integratsioonis või selle komponentides ilmnevad kestvad häired, viib see kudede kahjustusteni.

Sülg moodustab esmase kaitse vabade radikaalide vahendatud oksüdatiivse stressi vastu, sest mälumisprotsess soodustab mitmeid sellelaadseid reaktsioone, kaasa arvatud lipiidide peroksüdatsioon (15). Veelgi enam, gingiviidi korral suureneb igemetaskuvedeliku (GCF, *gingival crevicular fluid*) eritus, lisades süljele põletikulise vastuseprodukte. Ülaltoodu on selgituseks, miks sülje antioksidatiivse kaitsevõime testimine on nüüdisajal väga aktuaalne teema ning miks mitmed laborid on välja töötanud meetodeid selle hindamiseks.

Vabad radikaalid, hapniku reaktiivsed osakesed, oksüdandid, pro-oksüdandid ning antioksidandid

Hapnikku võib vaadelda gaasilise „toitainena“ (16), mida ei saa asendada ühegi teise elemendiga (17). Hapnikku vajab kõikide imetajate energeetika. Efektiivse aeroobse hingamise evolutsioon võimaldas keeruliste hulkraksete organismide teket (aeroobid), mis kasutavad hapniku selleks, et oksüdeerida (s.t põletada) süsiniku ja vesiniku poolest rikast kütust (s.t toitaineid) tootmaks eluks vajalikke erinevaid metaboolse energia vorme.

Sama ajal molekulaarse hapniku redutseerimisega veeks kaasneb vaba energia vabanemine, mille tulemusena tekivad erinevad üliaktiivsed keemilised ühendid. Bioloogiliselt on võimalik 1-, 2-, 3- või 4-elektroniline redutseerimine. 1-elektroniline redutseerimine põhjustab vabade radikaalide (VR) ja/või hapniku reaktiivsete osakeste (HRO) teket. HRO reaktiivsus ja selle kestva liigsusega seotud toksilisus on väga võimas kaastegur mitme kroonilise degeneratiivse haiguse patogeneesis (18–23). Viimase kümnendi jooksul on identifitseeritud üle 80 kliinilise seisundi, mille tekkes omistatakse juhtroll just HROdele (24).

Vaba radikaal on osake (või fragment), mis omab vähemalt ühte paardumata elektroni. Kõige olulisemad VR biosüsteemides on hapniku derivaadid (O_2^- , OH^- , OOH^- , RO^- , ROO^- , $RCOO^-$). HRO on laiem mõistem, hõlmates nii vabu radikaale kui ka reaktiivseid mitteradikaalilisi osakesi, mis osalevad VRide tekkes (H_2O_2 , 1O_2 , O_3 , HOCl jt). Bioloogiliselt olulised ei ole mitte ainult hapniku vabad radikaalid, kuigi nad on sageli esimesed osakesed, mis ainevahetuse tsükliks moodustuvad, vaid eksisteerib ka mitmeid teisi reaktiivseid osakesi: lämmastikoksiidi radikaal, tiüülradikaal, süsinik-tsentreeritud radikaalid, mis tekivad aminohapete ründamisel vabade radikaalide poolt, ning paljud teised (12, 13).

Pro-oksüdant (oksüdatiivne stressor) on osake/faktor, mis olles vaba radikaal või tekitab vabu radikaale, soodustab nende poolt vallandavate protsesside teket ja kulgu (25, 26), seega, toksilise ainena põhjustab bioloogiliste märklaudade kahjustusi. Antioksidandid on ühendid, mis juba väga väikses kontsentratsioonis on suutelised takistama, vältima või likvideerima vabade radikaalide jt reaktiivsete osakeste kahjulikke toimeid (27). Kuigi antioksidante võib liigitada mitmeti, on põhjendatum nende funktsionaalne klassifikatsioon, mis jaotab nad toime alusel kolme klassi (28):

1) preventiivsed antioksidandid, mis pärsivad VRide teket (superoksiidi dismutaas, katalaas, glutatiooni peroksüdaas ja glutatiooni-S-trans-

feras, karotenoidid, transferrin, albumiin, haptoglobiin, tseruloplasmiin);

2) radikaale kõrvaldavad antioksidandid, mis kõrvaldavad vabu radikaale, blokeerides sellega ahelreaktsiooni (albumiin, bilirubiin, karotenoidid, ubikinoon, kusihape, A-vitamiin, E-vitamiin, C-vitamiin);

3) reparatsiooni ensüümid, mis kõrvaldavad VRide jt reaktiivsete osakeste põhjustatud kahjustused biomolekulides (DNA reparatsiooni ensüümid jt).

Sülje pro-oksüdantsus ja seda reguleeriv antioksidantsus

Sülg sisaldab komponente, mis osalevad pehmete kudede reparatsioonis ning mitmeid antibakteriaalseid komponente, k.a lüsotsüüm, laktoferrin ja sülje peroksüdaasne süsteem. Inimese täissülg sisaldab terviklikku peroksüdaasest süsteemi, mille põhiliseks komponendiks on süljenäärmete poolt sekreteeritav sülje peroksüdaas ning PMNist pärinev müeloperoksüdaas (MPO).

Sülje peroksüdaasne süsteemi põhifunktsioon on kontroll hambakattu moodustavate bakterite üle, mis põhjustavad kaariest ja parodontiiti. Sülje peroksüdaasne süsteem katalüüsib tiotsüanaatiooni (SCN^-) peroksüdatsiooni, mille tulemusena tekivad mitmed oksüdatsiooni produktid (O_2SCN^- , O_3SCN^- , $(\text{SCN})_2$, HOSCN ning stabiilsem OSCN^-), mis inhibeerivad paljude mikroorganismide kasvu ja ainevahetust (9, 29). Sülje peroksüdaasne süsteem funktsioneerib ka kui katalaas. Inimese süljes võib suurenda H_2O_2 kontsentratsioon märkimisväärselt. Kuna H_2O_2 on tugevalt toksiline inimese rakkudele, OSCN^- aga mitte, siis SCN^- peroksüdatsioon *in vivo* võib täita kahte eesmärki: H_2O_2 (toodetakse bakterite ja ka inimese süljenäärmete poolt) akumulatsiooni piiramine ning OSCN^- ja HOSCN moodustamine.

Arvesse tuleb võtta ka seda, et igemetasku vedeliku GCF seguneb pidevalt süljega ning selle sekretsiooni kiirus suureneb gingiviidi korral; suurenenud GCF sekretsioon on seotud suurenenud PMN hulgaga, mis omakorda annavad oma panuse sülje peroksüdaasne süsteemile tänu müeloperok-

südaasile. MPO on heemproteiin, mis paikneb neutrofiilide ja vere monotsüütide azurofiilsetes graanulites ning katalüüsib kloori oksüdeerimist ja H_2O_2 redutseerimist moodustamaks hüpokloorihapet (HOCl). Viimane kui HRO võib põhjustada peptiidsideme katkemist ning madala molekulaaluga kloramiinide teket, millel on bakteritsiidseomadused (30). Superoksiidi ja H_2O_2 (viimane tekib respiratoorse purske ajal) kogused, mida kasutatakse kloori oksüdeerimiseks, võivad ulatuda kuni 40% üldkogusest, mis on kättesaadav nendes rakkudes (31). MPO võib akumulereuda une ajal, siis kui sülje sekretsiooni kiirus on väike, mille tõttu ka PMN produktide eemaldamine on aeglane. Arvatakse, et täissülje supernatandi MPO kõrgenenud tase on neil, kellel on väljendunud gingiviit, võimalik et seoses suuõõnde sattuva PMN hulga kasvuga (32).

Reguleerimaks igasugust, ka toidust tingitud pro-oksüdantsust on süljes integreeritud antioksidantne süsteem. Selle keskne komponent on kusihape, tähtsad on aga ka albumiin, askorbaat ning glutatioon (6, 33–35), lisaks on süljel tähtis roll HRO liigsuse, sh ka lipiidide peroksüdatsiooni blokeerimises (15). Kusihape on sülje põhi-antioksidant. Tema arvele langeb üle 85% sülje antioksidantsest kogumahtuvusest nii stimuleerimata kui ka stimuleeritud süljeerituse korral nii tervetel kui ka parodontoloogiliselt kahjustatud indiviididel (6). Kusihape kontsentratsioon süljes varieerub (40–240 μM) sõltuvalt tingimustest (6, 33–35). Albumiini kontsentratsioon on suhteliselt väike, umbes 10 μM , ligikaudu sama on ka askorbaadi kontsentratsioon (6). Huvitav on fakt, et askorbiinhape kontsentratsioon igemetaskuvedelikus on kolm korda suurem kui plasmal (36). Glutatiooni kontsentratsioon on umbes 2 μM (35). Süljes ja igemetaskuvedelikus leidub teatud määral ka teisi antioksidante, mis on võimelised siduma metallioone (transferrin, laktoferrin ja tseruloplasmiin) (12). Viimastele langeb umbes 5–10% sülje antioksidantsest kogumahtuvusest (6).

Antioksidantne kogumahtuvus: mida see tähendab ning kuidas seda mõõta?

HRO tootmine ning toimed on kompleksed ning sagedane on ka nende koosmõju (13). Antioksidantne kaitsesüsteem on samuti kompleksne (37, 13), moodustades efektiivse „võrgustiku“, mis on võimeline reguleerima/kontrollima HRO toimet. Määrates antioksidantset kogumahtuvust *in vivo*, on oluline hinnata erinevate antioksidantide kogust ja/või aktiivsust. Kuna VR/HRO ja antioksidantne süsteem toimivad komplekselt, siis üksikute antioksidantide uurimine võib olla petlik ning üksiku antioksidandi määramine on kindlasti vähe informatiivne võrrelduna antioksidantse kogumahtuvuse määramisega. Veelgi enam, erinevate antioksidantide olemasolu teeb iga üksiku antioksidandi määramise keeruliseks, samuti kalliks, eriti igapäevases kliinilises praktikas. Nendel põhjustel ongi põhiohk suunatud meetoditele, mis lubavad määrata biovedelike, sh sülje nn antioksidantset kogumahtuvust (TAC, *total antioxidant capacity*). TAC määramise meetodeid on põhjalikult kirjeldatud (25). Peamiselt kasutatakse 3 erinevat meetodikat (25): a) spektrofotomeetriline uuring, b) kemoluminescents-uuring, c) tsükliline voltampermeetria. Sülje TAC uuringud on muutumas üha vajalikumaks.

Spektrofotomeetriline meetod

Siin on välja töötatud mitu võimalust TAC mõõtmiseks vedelikes, mis kõik on tegelikult inhibitsiooni meetodid. Tekitatakse VR ja selgitatakse, kui palju uuritava proov (biovedeliku) seob vaba radikaali. See ongi sisuliselt uuritava proovi TAC. Spektrofotomeetriline meetod (ingl ka *Trolox equivalent antioxidant capacity*, TEAC) on ABTS-meetodi (6, 38) modifikatsioon. Viimane baseerub 2,2'-azinobis(3-etüülbensotiasoliin 6-sulfonaat) (ABTS⁺) radikaalilise katiooni absorptsiooni inhibitsioonil uuritava proovi antioksidantide poolt. See sinine/roheline kromogeen omab iseloomuliku absorptsiooni maksimumi UV-lähedases reioonis ning 600 nm, 734 nm ja

820 nm juures. ABTS⁺ tekib ABTS interaktsioonil ferrüülmüoglobiini radikaalidega, mis omakorda tekivad metmüoglobiini aktivatsiooni H₂O₂-ga. Antioksidantide juuresolekul ABTS⁺ absorptsioon on inhibeeritud ning inhibitsiooni ulatus sõltub uuritava vedeliku TACist. Meetodis kasutatakse standardina Troloksit, mis on E-vitamiini vesilahustuv analoog. Seega saab proove võrrelda Troloksiga ja ka omavahel, väljendades nende antioksidantset mahtuvust TEAC kaudu. TEAC-meetodit kasutati esmakordselt (6) selleks, et võrrelda TACi tervetel ja kroonilise parodontiidi haigetel. Andmed tõestasid kusihaige antioksidantset tsentraalset rolli süljes. Antioksidantide suurenenud tootmist seostati sülje sekretsiooni stimulatsiooniga. Leiti ka, et kroonilise parodontiidiga patsientidel ei olnud sülje TEAC muutunud, ning autorid oletasid, et see võib olla seotud antioksidantide lokaalse produktsiooni suurenemisega tänu suurenenud CGF sekretsioonile. Selline situatsioon tähendaks lokaalsete antioksidantide vähenemise võimatust. Hiljuti uuriti TEACd kõikuva kusihaige kontsentratsiooniga patsientidel (34) ja suitsetajatel (35, 39). Esimeses uuringus mõõdeti kontrollrühma ja hemodialüüsitud patsientide TEACd nii täissüljes kui ka parootise ja sublingvaal-/submandibulaarsüljes (34). Kontrollrühmas registreeriti maksimaalsed TEAC-väärtused parootise süljes, samal ajal kui hemodialüüsitud patsientide TEAC-väärtused olid maksimaalsed täissüljes. Hemodialüüsitud patsientidel olid TEAC-väärtused igas süljeliigis enne dialüüsi suuremad kui vastavad näitajad kontrollrühmal. Dialüüsi protseduuri lõpus TEAC-väärtused vähenesid oluliselt kõigis kolmes süljeliigis. Seetõttu kõrgeuurea uureatasemega vereplasmas kaasuvad alati suuremad TEAC-väärtused. Sarnased tulemused saadi ka ureemiahaigetel, kellel oli märkimisväärselt suurem plasma kusihaige kontsentratsioon ning kellel esinesid samal ajal ka suured TEAC-väärtused. Lõpuks, nii valkude üldine kontsentratsioon (*total protein concentration*) kui ka kusihaige kontsentratsioon näitasid tugevat positiivset seost TEAC-väärtustega süljes. Olemasolevad andmed ei võimalda teha

lõplikke järeldusi selle kohta, kas hemodialüüsiga patsientidel omab sülg kaitset krooniline paradontiidi vastu, sest ühelgi 25 patsiendist ei olnud paradontiiti. Oletatakse, et kusi-happest sõltuvad suured TEAC-väärtused võivad kaitsta periodonti. Teised uuringud hindasid TEAC-väärtusi suitsetajate ja mittesuitsetajate süljes (35, 39). Esimeses uuringus oletati, et sülje TEAC-väärtustele ja kusi-happe kontsentratsioonile ei avalda mõju ühe sigareti suitsetamine ning suitsetajate ja mittesuitsetajate vastavad näitajad ei erine (35). Ainult glutatiooni tase langes pärast ühe sigareti suitsetamist. Kahjuks ei olnud selgitatud, miks mittesuitsetajatel oli väga väike glutatiooni kontsentratsioon, mis sarnanes glutatiooni kontsentratsiooniga suitsetajatel pärast ühe sigareti suitsetamist. Teises uuringus tõestati kusi-happe kui peamise sülje antioksidandi rolli ning ka korrelatsiooni sülje TEAC-väärtuste ja kusi-happe kontsentratsiooni vahel (39). Samuti näidati, et suitsetajate ja mittesuitsetajate sülje TEAC-väärtused ning kusi-happe kontsentratsioonid ei erine omavahel. Tõestust leidis ka fakt, et ühe sigareti suitsetamine ei avaldanud märkimisväärset mõju ei TEAC-väärtustele ega kusi-happe kontsentratsioonile.

Kemoluminestsentsmeetod

Sülje TACd võib mõõta ka kemoluminestsentsi kaudu (12, 40, 41). Üks levinuim kemoluminestsentsmeetodi (ECL, *enhanced chemiluminescence assay*) variant põhineb mädarõika peroksüdaasi poolt katalüüsitud luminooli oksüdatsioonil H_2O_2 poolt (12). Reaktsiooni käigus tekkinud valgust tugevdatakse p-iodofenooliga, mis pikendab ja intensiivistab valgussignaali. Lõplikku signaali saab ajutiselt alla suruda antioksidantidega. Selline supressioon kestab, kuni kõik antioksidandid on kulutatud. Uuritava lahuse TAC saab arvutada standardkövera abil, mis on saadud kalibreerimislahuse abil. See kiire, lihtne ja reprodutseeritav meetod võimaldas tuvastada, et sülje TAC oli kroonilise paradontiidiga haigetel madalam kui neil, kellel periodontaalpatoloogia puudus.

Teine kemoluminestsentsmeetodi variant põhineb lipiidide hüdroperoksiidi ja isoluminool/mikroperoksüdaas-reagendi genereeritud kemoluminestsentsi kõrvaldamisel antioksidantide poolt. Kui uuritavas lahuses esinevad antioksidandid, siis kõrvaldavad nad lipiidide oksüradikaali ja seega pärsivad valguse produktsiooni (40). Seda meetodit kasutati, et hinnata biovedelike, sh sülje antioksidantide hulka, mõõtes kontsentratsiooni, mis tagab 50% inhibitsiooni (I_{50}).

Kolmas kemoluminestsentsmeetodi variant põhineb OH^- tootmisel Fentoni reaktsiooni käigus ning selle järgnevat määramist kemoluminestsentsi abil. See lihtne, tundlik ja kasulik meetod hindab biovedelikke, sh sülje võimet kõrvaldada OH^- radikaale (41).

Voltampermeetria

Kolmas meetod sülje TAC määramiseks tundub olevat vähem levinud ning nõuab tsüklilise voltampermeetria tehnika kasutamist (42). Meetod on välja töötatud sülje TAC mõõtmiseks, võttes arvesse asjaolu, et põhiosa sülje VRide kõrvaldajatest on redutseerivad molekulid. Tsüklilise voltampermeetria protseduuri kirjelduse järgi (43, 42) hinnatakse sülje madalmolekulaarsete antioksidantide üldist redutseerivat võimet. Proovid asetatakse alusplaadile, kus on kolm elektroodi: tööelektrood (nt süsinikelektrood), referentselektrood (Ag/AgCl) ja lisaelektrood (plaatina-straat). Konstantse väärtusega potentsiaali rakendamine tööelektroodile kas positiivse potentsiaali suunas (selleks et hinnata redutseerivaid ekvivalente) või negatiivsele elektroodile (hinnatakse oksüdeerivaid osakesi) võimaldab salvestada potentsiaalide kõverat või "tsüklilist voltamperogrammi". Sülje tsüklilisel voltamperogrammil ilmneb üks anoodne laine, mis näitab teatud madala molekulaaluga redutseerivate omadustega antioksidantide olemasolu. On tuvastatud, et sellele lainele vastavad komponendid korreleeruvad sülje TAC väärtustega. Kuid mitte kõik levinud antioksidandid ei anna oma elektrone tööelektroodile vajalikul määral. See on põhjuseks,

miks tiolühendeid, nagu glutatiooni, tuleb määrata erinevaid elektroode kasutades (nt Au/Hg). Lõpuks, selle protseduuri tundlikkus on suhteliselt väike: see võimaldab määrata redutseerivaid ekvivalente alates 1–10 µM.

Lihtsaim ja töökindlam on ilmselt spektrofotomeetriline meetod kui silmas pidada ka kasutamist kliinilistes uuringutes.

Kokkuvõte

Sülge on äärmiselt oluline organismi kaitsetegur. Nüüdisajal on selge, et sülge omab lisaks kahele klassikalisele kaitse süsteemile – immunoglobuliinsele ja mitteimmunoglobuliinsele süsteemile – ka kolmandat, äärmiselt olulist kaitse süsteemi.

Selleks on sülge integreeritud antioksidantne kaitse süsteem. Sügava ja kestva oksüdatiivse stressi juhtroll kardiovaskulaarsete haiguste patogeneesis on tänapäeval veenvalt tõestatud (44, 45). Järjest rohkem leiab kinnitust taolise oksüdatiivse stressi roll ka stomatoloogiliste haiguste patogeneesis. Viimastel aastatel on välja töötatud mitmed meetodid sülge kogu antioksidantse aktiivsuse määramiseks, mis näitab nii uurijate kui ka kliinitsistide suurenevat huvi sülge vastu selles kontekstis. Kuna sülge on tänapäeval hakatud kasutama diagnostilise vahendina mitmete kliiniliste situatsioonide puhul (46 jt), loodame, et ülevaates käsitletud meetodikad võivad lähiajal leida kasutamist ka kliiniliste probleemide lahendamisel.

Kirjandus

1. Vihalemm T, Liskmann S, Kokassaar U, Zilmer M. Multicomponental mixture of antioxidants and patients with periodontitis. *Free Radic Res* 2002; 36 (Supplement 1):120–21.
2. Oho T, Mitoma M, Koga T. Functional domain of bovine milk lactoferrin which inhibits the adherence of *Streptococcus mutans* cells to a salivary film. *Infect Immun* 2002;70:5279–82.
3. Mandel ID. Relation of saliva and plaque to caries. *J Dent Res* 1974;53:246–66.
4. Nagler RM, Klein I, Zarzhevsy N, Drigues N, Reznick AZ. Characterization of the differentiated antioxidant profile of human saliva. *Free Radic Biol Med* 2002;32: 268–77.
5. Wei SHY, Crall JJ, Wefel JS. Dental caries: resistance factors-enamel chemistry and saliva. In: Edgar WM, O'Mullane DM, eds. *Systemic prevention of oral disease: theory and practice*. London, BDJ; 1986. p.1–8.
6. Moore S, Calder KA, Miller NJ, Rice-Evans CA. Antioxidant activity of saliva and periodontal disease. *Free Radic Res* 1994;21:417–25.
7. FDI Working Group 10, CORE. Saliva: its role in health and disease. *Int Dent J* 1992;42:291–304.
8. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J* 1992;172:305–12.
9. Tenovuo J, Lehtonen OPJ, Aaltonen AS, Vilja P, Tuohimaa P. Antimicrobial factors in whole saliva of human infants. *Infect Immun* 1986;51:49–53.
10. Whelton H. Introduction: the anatomy and physiology of salivary glands. In: Edgar WM, O'Mullane DM, eds. *Saliva and oral health*. London, BDJ; 1996. p.1–8.
11. Edgar WM, Higham SM. Saliva and the control of plaque. In: Edgar WM, O'Mullane DM, eds. *Saliva and the control of plaque pH*. London, BDJ; 1996. p.81–94.
12. Chapple ILC. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol* 1997;24:287–96.
13. Battino M, Bullon P, Wilson M, Newman H. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of antioxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999;10:458–76.
14. Nakahara H, Sato EF, Ishisaka R, Kanno T, Yoshioka T, Yasuda T, Inoue M, Utsumi K. Biochemical properties of human polymorphonuclear leucocytes. *Free Radic Res* 1998;28:485–95.
15. Terao J, Nagao A. Antioxidative effect of human saliva on lipid peroxidation. *Agri Biol Chem* 1991;55:869–72.
16. Forster RE, Estabrook RW. Is oxygen an essential nutrient? *Annu Rev Nutr* 1993;13:383–403.
17. George P. The fitness of oxygen. In: King TE, Mason HS, Morrison M, eds. *Oxidases and related redox systems*. New York: Wiley; 1964. p.3–32.
18. Pryor WA. Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes and reactions. *Annu Rev Physiol* 1986;48:657–67.

19. Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* 1990;186:1-85.
20. Cheeseman KH, Slater TF. Free radicals in medicine. *Br Med Bull* 1993;49:479-723.
21. Rice-Evans C, Burdon R. Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Prog Lipid Res* 1993;32:71-110.
22. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence. *Lancet* 1994;344:721-24.
23. Sies H. Antioxidants in disease mechanisms and therapy. *Adv Pharmacol*. San Diego: Academic Press; 1997.
24. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol* 2002;29:189-94.
25. Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 1999;27:1173-81.
26. Zilmer M, Vihalemm T, Kokassar U. Toit - antioksidantsus, oksüdatiivne stress, ennetuslik tervisekaitse. Tartu: 1995.
27. Halliwell B. Antioxidants: the basics- what they are and how to evaluate them. In: Sies H, ed. *Antioxidants in disease mechanisms and therapy*. *Adv Pharmacol* 1997;38:3-20.
28. Niki E. α -Tocopherol. In: Cadenas E, Packer L, eds. *Handbook of antioxidants*. New York: Marcel Dekker; 1996. p.3-25.
29. Pruitt KM, Tenovuo J, Mansson-Rahemtulla B, Harrington P, Baldone DC. Is thiocyanate peroxidation at equilibrium in vivo? *Biochim Biophys Acta* 1986;870:385-91.
30. Miyasaki KT. The neutrophil: mechanisms of controlling periodontal bacteria. *J Periodontol* 1991;62:761-74.
31. Foote CS, Goyne TE, Lehrer RI. Assessment of chlorination of human neutrophils. *Nature* 1983;301:715-16.
32. Smith QT, Yang CH. Salivary myeloperoxidase in young adult humans. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1984;175:468-75.
33. Lynch E, Sheerin A, Claxon AWD, Atherton MD, Rhodes CJ, Silwood CJL, Naughton DP, Grootveld M. Multicomponent spectroscopic investigation of salivary antioxidant consumption by an oral rinse preparation containing the stable free radical species chlorine dioxide. *Free Radic Res* 1997;26:209-34.
34. Meucci E, Littarru C, Deli G, Luciani G, Tazza L, Littarru GP. Antioxidant status and dialysis: plasma and saliva antioxidant activity in patients with fluctuating urate levels. *Free Radic Res* 1998;29:367-76.
35. Zappacosta B, Persichilli S, De Sole P, Mordente A, Giardina B. Effect of smoking one cigarette on antioxidant metabolites in the saliva of healthy smokers. *Arch Oral Biol* 1999;44: 485-88.
36. Meyle J, Kapitzka K. Assay of ascorbic acid in crevicular fluid from clinically healthy gingival sites by high performance liquid chromatography. *Arch Oral Biol* 1990;35:319-23.
37. Chapple ILC, Mason I, Garner I, Matthews JB, Thorpe GH, Maxwell SRJ, Whitehead TP. Enhanced chemiluminescent assay for measuring the total antioxidant capacity of serum, saliva and crevicular fluid. *Ann Clin Biochem* 1997;34:412-21.
38. Rice-Evans C, Miller NJ. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods Enzymol* 1994; 234: 279-93.
39. Kondakova I, Lissi EA, Pizarro M. Total reactive antioxidant potential in human saliva of smokers and non smokers. *Biochem Mol Biol Int* 1999;47:911-20.
40. Hirayama O, Takagi M, Hukumoto K, Katoh S. Evaluation of antioxidant activity by chemoluminescence. *Anal Biochem* 1997;247:237-41.
41. Hirayama O, Yida M. Evaluation of hydroxyl radical-scavenging ability by chemoluminescence. *Anal Biochem* 1997;251:297-99.
42. Kohen R, Beit-Yannai E, Berry EM, Tirosh O. Overall low molecular weight antioxidant activity of biological fluids and tissues by cyclic voltammetry. *Methods Enzymol* 1999;300:285-96.
43. Chevion S, Berry EM, Kitrossky NK, Kohen R. Evaluation of plasma low molecular weight antioxidant capacity by cyclic voltammetry. *Free Radic Biol Med* 1997; 22:411-21.
44. Darley-Usmar V, Halliwell B. Blood radicals: reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system. *Pharm Res* 1996;13(5):649-62.
45. Halliwell B. The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. *Haemostasis* 1993; Suppl 1:118-26.
46. Mandel ID. The diagnostic uses of saliva. *J Oral Pathol Med* 1990;19:119-25.

Summary

Saliva – the object of novel investigations

Saliva, a heterogeneous fluid containing simple proteins, glycoproteins, electrolytes, small organic molecules and compounds transported from the blood, constantly bathes the teeth and the oral mucosa. It acts as a cleansing solution, an ion reservoir and a buffer. In addition to its host-protective properties, saliva could serve as first line defence against free-radical mediated oxidative stress, since the process of mastication and digestion of ingested foods promotes a variety of reactions, including lipid peroxidation. Moreover, during gingival inflammation, the flow of gingival crevicular fluid increases change in the composition of saliva with products from inflammatory response; this, in turn, could play some role in controlling and/or modulating oxidative damages in the oral cavity. This is the reason

why the antioxidant capacity of saliva has attracted increasing interest, and led to the development of techniques suitable for of the antioxidant capacity of saliva.

Here, we review current peer-reviewed literature concerning the nature and characteristics of free radicals, reactive oxygen species, pro-oxidants and antioxidants present in saliva, especially its pro-oxidant and anti-oxidant characteristics, as well as current methods for assessing the antioxidant capacity of saliva. In the last decade, several methods were developed for assaying the antioxidant activity of saliva, indicating the increasing interest of researchers and clinicians. Unfortunately, systematic studies of saliva are still lacking, even in healthy populations.

stas@ut.ee