

POST ACADEMIAM

ENKELE FUNCTIONELE ASPECTEN VAN SPEEKSELEIWITTEN

A. C. JURIAANSE

Uit het laboratorium voor Materia Technica van de rijksuniversiteit te Groningen.

Trefwoorden: Speeksel - Pellikel - Tandsteen

Inleiding

Speeksel is een zeer complexe vloeistof. De voornaamste componenten zijn water, opgeloste zouten, bacteriën en glycoproteïnen (eiwitten). Het zijn deze glycoproteïnen, die in hoge mate de vele processen bepalen die zich rond het glazuuroppervlak afspeelen (pellikel- en plaquevorming, de- en remineralisatie en de vorming van tandsteen).

De belangrijkste groepen van eiwitten in het speeksel zullen in dit artikel worden behandeld, waarbij sommige van deze groepen aan een nadere beschouwing zullen worden onderworpen in verband met hun belang voor processen, die op het ogenblik in het centrum van de belangstelling staan van het speekselonderzoek.

Over het adsorptiegedrag van speekseiwitten in relatie tot de vorming van de pellikel werd al eerder gerapporteerd (Juriaanse, 1979).

Speekselklieren

Aangezien er grote individuele variaties bestaan in de samenstelling van speeksel, maar ook al naar dag en tijd van verzamelen, secretiesnelheid en soort van stimulus hadden de resultaten van de eerste onderzoekingen van speeksel zeer tegenstrijdige resultaten tot gevolg.

De hoeveelheid speeksel die door de mens wordt geproduceerd wordt geschat op 1-1½ liter per etmaal. De belangrijkste bronnen zijn de drie paren grote speekselklieren nl. de glandula parotis (oorspeekselklier), de glandula submandibularis (onderkaakspeekselklier) en de glandula sublingualis (ondertongspeekselklier). Deze klieren leveren in rust resp. 25, 70 en 5% van het speeksel maar deze verhoudin-

gen kunnen als gevolg van stimulatie veranderen in 60, 30 en 2%, terwijl de produktie van de glandula parotis tijdens de slaap terug kan vallen naar 0%. Daarnaast wordt nog een bijdrage geleverd door kleine speekselkliertjes in bijvoorbeeld de tong, de binnenkant van de lip en elders in het mondslimvlies.

De verschillende speekselklieren leveren verschillende speekselsamenstelling. De gl. parotis levert een dun vloeibaar, zgn. sereus speeksel. De viscositeit van het submandibularispeeksel is aanzienlijk hoger dan die van het parotis-speeksel. Dit wordt veroorzaakt door het feit, dat de gl. submandibularis een zgn. 'gemengde' klier is, die zowel 'sereuze' als 'muceuze' cellen bevat, die resp. 'dun' en 'dik' speeksel produceren. De gl. sublingualis is een muceuze klier en produceert een dik soort speeksel, evenals de andere kleine speekselklieren. Uit het feit, dat de kleinere speekselklieren een geringe bijdrage leveren aan de totale hoeveelheid speeksel mag niet worden geconcludeerd dat ze niet belangrijk zijn. Zo is albumine, een bloedplasma-eiwit, dat in een aanmerkelijke hoeveelheid aanwezig is, volledig afkomstig van de kleine speekselklieren.

Speekselsecretie

De speekselsecretie wordt gereguleerd door het sympatische en het parasympatische zenuwstelsel, waarbij het sympatische zenuwstelsel een remmende en het parasympatische een stimulerende werking zou hebben. Recente gegevens duiden ook op een rol van hormonen. De stimuli kunnen in het algemeen worden onderverdeeld in drie klassen, te weten:

1. mechanische (b.v. druk uitoefenen

Samenvatting:

Speeksel bevat vele eiwitten. Tot nu toe ontbreekt nog veel inzicht omtrent de functie van deze groep van verbindingen. Onderscheiden kunnen worden de enzymen (vertering, defensie) en stoffen met een hoge affiniteit voor het hydroxylapatiet. Geadsorbeerde eiwitten aan het oppervlak spelen wellicht een rol als initiatoren van tandsteenvorming.

Of er een overlap bestaat tussen de genoemde indeling en hoeveel eiwitten er eigenlijk aanwezig zijn, is niet bekend. Van vele eiwitten in speeksel is nog niets of alleen een chemische karakterisering bekend. Wat de functionele groepen zijn voor de verschillende functies is evenmin vastgesteld.

Toekomstig onderzoek zal waarschijnlijk worden geconcentreerd op ionbindende eiwitten en hun functie rond het glazuuroppervlak en de wisselwerking tussen eiwitten en micro-organismen. Pas als hierbij fundamentele gegevens bekend worden omtrent samenstelling en functie liggen praktische toepassingen voor preventie langs deze weg voor de hand.

op de klieren);

2. chemische (de invloed van bepaalde geur- of smaakstoffen kunnen zeer drastische effecten op de speekselvloed hebben);
3. psychische (alleen al het denken aan lekker eten doet iemand vaak al 'het water' in de mond lopen).

De bekende experimenten van Pavlov, die een hond liet kwijlen als reactie op een lichtsignaal zijn hiervoor een duidelijk bewijs. Bovendien beschreef Pavlov verschillende soorten speeksel als respons op verschillende soorten voedsel. Zo werd dun speeksel afgescheiden als de hond droog voedsel en dik speeksel als de hond vlees te zien kreeg.

Zoals al eerder opgemerkt heeft stimulatie een belangrijk effect op de volumeverhouding tussen de produkten van de verschillende klieren. Op het effect in samenstelling zal hieronder worden ingegaan.

Het sterkste bewijs dat cariës en secretiesnelheid met elkaar verbonden zijn, is wel het feit, dat zeer snel desastreuze cariësprocessen (de zogenaamde rampant cariës) voorkomen in geval-

len waarbij een afname in de hoeveelheid speeksel optreedt, zoals bij speekselstenen of na bestralingen.

Door Shannon en Terry (1965) kon echter geen statistisch bewijs worden geleverd, dat minder cariës voorkwam bij personen met een hoge speekselsecretie. Wel werden grote kwantitatieve verschillen in speekseiwitten aangetoond tussen personen met rampant cariës en gezonde personen. Balekjian et al. (1975) beschrijven een significant hoger gehalte aan negatief geladen glycoproteïnen in geval van rampant cariës vergeleken met de gezonde situatie. Daarnaast bleek het gehalte aan positief geladen glycoproteïnen aanzienlijk lager te zijn.

Samenstelling

In zijn algemeenheid is het onmogelijk kwantitatieve gegevens te vermelden omtrent de samenstelling van speeksel. De moeilijkheden hiervoor zijn de volgende:

In de eerste plaats blijken verschillen gevonden te worden tussen wel en niet 'gestimuleerd' speeksel. Bovendien blijkt de samenstelling ook nog afhankelijk te zijn van de duur en de soort van de stimulus. Ook laat de al eerder genoemde verschuiving tussen de volumina afkomstig van de verschillende klieren zijn sporen in de samenstelling na. Stimulatie van speekselsecretie treedt o.a. op onder invloed van zure smaakstoffen. In de tweede plaats is onderzoek niet zeer eenvoudig uit te voeren. Zo zijn bepaalde speekselsoorten moeilijk te verzamelen. Ook heeft het verlies van CO₂ aan de lucht invloed en zijn altijd resten in het speeksel aanwezig van voedsel en epitheelcellen.

Anorganische stoffen

Van de anorganische stoffen in speeksel zijn calcium- en fosfaationen wel de belangrijkste in het kader van deze publicatie. Ook hier worden grote verschillen gevonden tussen verschillende personen. In het algemeen worden hogere resp. lagere ionenconcentraties gemeten bij individuen met hoge en lage secretiesnelheden, maar hier-

op is met name het fosfaat een uitzondering.

Het fosfaat is voornamelijk afkomstig van de grote speekselklieren. In ongestimuleerd speeksel worden hoge fosfaatgehalten gemeten, terwijl deze sterk afnemen onder invloed van stimulatie. Fosfaat is in verschillende vormen in speeksel aanwezig. Mogelijkheden zijn PO₄³⁻, HPO₄²⁻ en H₂PO₄⁻ afhankelijk van de pH van het speeksel. Bij dialyse van speeksel blijkt ±80% van het fosfaat weggedialyseerd te worden. Van de overblijvende 20% wordt 2-5% als colloïdaal calciumfosfaat achtergehouden, terwijl 10-15% als fosfaat-esters aan eiwit gebonden is (Grøn, 1973).

De calcium-concentraties verschillen sterk per speekselklier. Zo is de concentratie in parotisspeeksel 2 à 3 keer lager dan in submandibularisspeeksel. Ook hier geldt de afhankelijkheid van stimulatie. Ongestimuleerd speeksel heeft een hoog calciumgehalte, dat afneemt bij geringe stimulatie. Wordt de stimulatie sterker dan neemt ook de hoeveelheid calcium weer toe. Grøn beschrijft dat 85% van het calcium als ion aanwezig is, 6% als colloïdaal calciumfosfaat en 8% als aan eiwit gebonden calcium. Aangezien de hoeveelheid eiwit vrij gering is vergeleken met serum (speeksel bevat ong. 1 g eiwit/l, serum ong. 6 g/l) en de concentratie van aan eiwit gebonden calcium hoger is, moet de calciumbindende capaciteit van de speekseiwitten zeer groot zijn. Enkele calciumbindende eiwitten zullen hieronder besproken worden.

In het algemeen kan worden gesteld, dat het speeksel onder vrijwel alle omstandigheden oververzadigd is aan calcium en fosfaat voor alle basische calcium-fosfaat-zouten. Dit houdt in dat er hogere concentraties aan calcium en fosfaat worden gemeten in speeksel dan in een verzadigde oplossing van hetzelfde zout in water. Deze ionen zullen normaliter aan eiwitten gebonden zijn.

Behalve calcium en fosfaat zijn de belangrijkste ionen natrium, kalium, magnesium, fluoride en thiocyanaat, welke laatste betrokken is bij het bacterie-remmend systeem via het lactoperoxydase (de concentratie van het

thiocyanaat zelf is te laag om een remmende functie van belang uit te kunnen oefenen). Mogelijke functies van andere anorganische ionen kunnen worden gezocht als cofactoren bij enzymreacties (b.v. Cl⁻ bij amylase).

Organische stoffen

Van de organische stoffen zullen alleen de eiwitten nader worden beschouwd.

Van *bloedeiwitten* is het secretory IgA (sIgA) het meest opvallende eiwit dat in speeksel aanwezig is. Het in speeksel aangetroffen IgA is in een andere vorm aanwezig dan in het bloed. Dit immunoglobuline komt nl. niet in het speeksel via lekkage uit serum, maar wordt uitgescheiden door de speekselklier. In de klier wordt aan twee IgA-moleculen een peptidestuk toegevoegd (het zgn. 'secretory piece'), waarna deze drie fragmenten als één geheel worden afgescheiden (secretory IgA). In studies van Everhart et al. (1977) werd een significant negatieve correlatie gevonden tussen de hoeveelheid sIgA en cariës. Een anti-cariëuze functie valt hieruit af te leiden. Omtrent de precieze werking van sIgA met betrekking tot cariës is vrij weinig bekend.

Ruim 80% van de mensen hebben ook de bloedgroepfactoren in hun speeksel. Deze factoren zijn afkomstig van de kleine speekselklieren en hebben een opvallend hogere activiteit dan in bloed. Zo is het mogelijk om aan de hand van speekselresten op de rand van een glas de bloedgroep te bepalen van degene die eruit gedronken heeft. Andere in speeksel aanwezige bloedeiwitten worden niet als secretieproduct uitgescheiden, maar komen in het speeksel als gevolg van lekkage door de bloedvatwand in de speekselklier. Voorbeelden hiervan zijn: albumine, IgM, IgG, lipoproteïnen en sporen van andere bloedeiwitten zoals ceruloplasmine en orosomucoïd.

Van de *enzymen* in speeksel is alleen het amylase in speeksel in voldoende concentratie aanwezig voor een rol bij de spijsvertering. Het moet echter niet uitgesloten worden geacht, dat de voornaamste functie van het amylase

bestaat uit het verteren van achtergebleven voedselresten in de mond. Andere enzymen zoals fosfatasen, esterassen en enolassen zijn in te lage concentraties aanwezig om voor de spijsvertering van belang te zijn. Er wordt hun alleen een rol toegedacht in zeer langdurige processen (zoals het cariësproces). Belangrijke andere enzymen in de mondholte zijn lactoperoxydase, lactoferrine en lysozyme, die betrokken zijn bij de antibacteriële systemen in de mondholte, zoals recentelijk beschreven door Hoogendoorn (1978).

Andere glycoproteïnen

De glycoproteïnen zijn in grote hoeveelheden en in zeer grote verscheidenheid aanwezig. De hierboven genoemde groepen van eiwitten (bloed-eiwitten en enzymen) zijn grotendeels ook glycoproteïnen. Reden waarom de hier toegepaste scheiding wordt gemaakt is het feit dat bovengenoemde eiwitten redelijk bekend en te definiëren zijn aan de hand van bepaalde eigenschappen (zoals enzymactiviteit).

De hierna te behandelen eiwitten zijn pas de laatste paar jaar in de belangstelling gekomen en van enkele is zelfs de analyse nog niet bekend, want de isolatie en analyse van deze glycoproteïnen is niet eenvoudig. De glycoproteïnen komen in een zeer grote diversiteit voor in het speeksel, een verschijnsel waarvoor een tweetal oorzaken kan worden aangewezen:

In de *eerste plaats* worden er groepen van zeer verwante glycoproteïnen uitgescheiden. Zo vindt men in speeksel groepen proline-rijke eiwitten (Azen, 1977) naast histidine-rijke eiwitten (Baum et al., 1976). Overigens worden ook enzymen als lactoperoxydase (Azen, 1978) en amylase (Degand et al., 1976) in verschillende vormen aangetroffen. Dit verschijnsel wordt toegeschreven aan zgn. alléle genen, dit zijn genen, die zeer verwant zijn en coderen voor zeer op elkaar lijkende eiwitten.

In de *tweede plaats* blijkt dat als gevolg van stimulatie van de eiwitsecretie de concentratie toeneemt, maar dat on-

volledig gesynthetiseerde eiwitten worden afgescheiden. Dit verschijnsel bleek toe te nemen bij sterkere of langduriger stimulatie (Levine, 1973). Kennelijk kan de klier niet voldoen aan de behoefte aan glycoproteïnen in speeksel bij landurige stimulatie.

In het algemeen zijn de samenstellingen van speeksel van verschillende individuen identiek en treden alleen kwantitatieve verschillen op voor bepaalde componenten. Alleen in gevallen van een bepaalde ziekte kunnen ook kwalitatieve verschillen worden gevonden. Dit is bijvoorbeeld het geval bij patiënten met cystic fibrosis (CF). Deze patiënten scheiden grotere hoeveelheden mucose secreties af dan gezonde personen, zowel in de speekselklieren als in de longen, de pancreas of andere glycoproteïnen synthetiserende klieren. In speeksel uit deze ziekte zich met name door het troebel worden van submandibularispeeksel. Dit verschijnsel wordt toegeschreven aan een eiwit dat samen met calcium een neerslag vormt (Boat et al., 1974). Dit neerslag speelt naar alle waarschijnlijkheid een rol bij de afsluiting van de afvoerbuis van de glandula submandibularis die bij CF-patiënten optreedt. Ook wordt dit eiwit aangetroffen op het glazuuroppervlak en daar kan het een rol spelen waarop later in dit artikel wordt ingegaan (calciumbindende eiwitten).

Daarnaast worden kwalitatieve verschillen aangetroffen in eiwitsamenstelling tussen CF-patiënten en gezonde individuen (Guha et al., 1977). Bij CF-patiënten was de opname van fucose door bepaalde eiwitreceptoren in het speeksel aanzienlijk hoger dan bij niet-CF-patiënten. De reden voor deze verschillen is nog niet duidelijk. Mogelijk is de verhoging van de secretiesnelheid een oorzaak van het geconstateerde verschil in fucose-opname, omdat als gevolg van verhoogde secretie onvolledig gesynthetiseerde glycoproteïnen worden afgescheiden, zoals hierboven beschreven (Levine, 1973).

Daarnaast vallen nog enkele groepen eiwitten op, nl. calcium- of fosfaatbindende eiwitten en die met agglutine-

rende werking; deze zullen hierna apart worden besproken.

Calcium- en fosfaatbindende eiwitten

In het voorafgaande werd de oververzadiging van het speeksel aan calcium en fosfaat reeds vermeld. Het lijkt aannemelijk dat de (negatieve) fosfaat-ionen gecompliceerd worden door positief geladen eiwitten, terwijl calcium gebonden kan worden aan de negatief geladen eiwitten.

Reeds in 1967 isoleerden Rölla en Jonson een calciumbindend eiwit uit speeksel dat acht maal zoveel calcium kon binden als de bloedplasma eiwitten.

Uit een oververzadigde oplossing van een calciumfosfaat-zout (dicalciumfosfaat dihydraat, DCPD) kristalliseert de vaste stof DCPD uit. Als aan deze oververzadigde oplossing speeksel werd toegevoegd, werden geen neerslagen gevonden (Grøn, 1973). Hieruit blijkt een duidelijke rol van speekseiwitten bij het in stand houden van de oververzadiging van speeksel aan calciumfosfaat-zouten. De stabiliserende factoren in speeksel lijken voor een groot gedeelte te zitten in de macromoleculaire stoffen. De activiteit bleek sterk te verschillen tussen verschillende donoren. De stabiliserende activiteit neemt toe bij stimulatie, hetgeen overeenkomt met grotere oververzadigingsgraad van gestimuleerd speeksel ten opzichte van alle calciumfosfaat-zouten (Grøn en Hay, 1976).

Ook de invloed van niet-speekseiwitten op de kristallisatie van calciumfosfaat-zouten is bekend. Zo bleken suspensies van calciumfosfaat stabiel in aanwezigheid van eiwitmateriaal. Zowel positief als negatief geladen eiwitten (al dan niet gefosforyseerd) bleken deze werking te bezitten (Terminé, Peckauskas, Posner, 1970). Ook op de kinetiek van de kristallisatie van verzadigde calciumfosfaat-oplossingen was enige invloed merkbaar van niet-fibrillaire eiwitten, al was deze invloed aanmerkelijk geringer dan die van b.v. het fibrillaire eiwitcollageen dat, zoals bekend, voorkomt in de matrix in bot en dentine.

Glycoproteïnen die oorspronkelijk

waren geïsoleerd uit speeksel in verband met hun hoge affiniteit voor het hydroxylapatiet (Hay en Schlesinger, 1977; Bennick, Wong en Cannon, 1977; Juriaanse en Booi, 1979) blijken nu ook zeer sterke calciumbindende eigenschappen te hebben. Bovendien blijkt het door Hay en Schlesinger geïsoleerde 'statherin' een stabiliserende werking op oververzadigde calciumfosfaat-oplossingen, zoals hierboven beschreven, te hebben. Gebonden fosfaatgroepen aan deze eiwitten blijken een zeer belangrijke rol te spelen bij zowel de adsorptie aan hydroxylapatiet als bij de stabiliserende werking op verzadigde calciumfosfaat-oplossingen. Deze eiwitten zullen dus hun rol waarschijnlijk hebben als beïnvloeders van het calcium-'metabolisme' aan het oppervlak van de tand. Hun enigszins ongebruikelijke chemische structuur (zij bevatten namelijk veel proline, en hebben hun ladingen geconcentreerd in het molecuul) is mogelijk een waarborg tegen grote structurele veranderingen als gevolg van de sterk variërende milieu-omstandigheden zoals pH en ionsterkte.

Prolinerijke eiwitten (PRP's)

Bij aminozuuranalyse van speeksel valt het hoge gehalte van het aminozuurproline op. De eiwitcomponenten met een hoog prolinegehalte zijn voornamelijk afkomstig uit het parotispeeksel, alhoewel enkele ook in submandibularisspeeksel kunnen worden aangetroffen. Opvallend bij deze eiwitten is de grote diversiteit, d.w.z. er worden zeer vele, sterk op elkaar gelijkende, eiwitten aangetroffen (Azen, 1977). Zowel zure als basische prolinerijke eiwitten, PRP's, zijn in het speeksel aanwezig. Lange tijd heeft men in het duister getast omtrent hun biologische functie en hoewel alles nog verre van duidelijk is, begint hierin nu enige tekening te komen. Zo bleken enkele van de zure PRP's een hoge affiniteit voor hydroxylapatiet te bezitten en bovendien sterk calciumbindende eigenschappen te vertonen (Bennick, Wong en Cannon, 1977). Het is dus aannemelijk dat deze eiwitten betrokken zijn bij het in tact houden van het

tandoppervlak. Daarnaast werd geconstateerd (Azen, 1978) dat een éénvoudig verband bestaat tussen de verschillende vormen van deze zure PRP's en verschillende vormen van het enzym lactoperoxydase. Dit enzym is betrokken bij de beschermingsystemen in de mond en de veronderstelling ligt voor de hand dat deze PRP's een regulerende functie hebben en bepalen welke vorm van lactoperoxydase uitgescheiden wordt uit de speekselklier. Het is niet uitgesloten dat deze PRP's die in de pellicel aanwezig zijn ook daar een invloed uitoefenen op het lactoperoxydase, dat zijn activiteit behoudt als het geadsorbeerd wordt aan de pellicel (Pruitt en Adamson, 1977). Niet bekend is overigens of geschetste processen inderdaad in de pellicel plaatsvinden.

Een andere mogelijkheid voor de rol van deze prolinerijke eiwitten is die welke werd gesuggereerd door Degand et al. (1976), die vonden dat interactie van de PRP's met alpha-amylase uit speeksel een verhoging van de specifieke activiteit van dit enzym tot gevolg had. De biologische functie van deze PRP's werd gezocht in een beschermende werking van de PRP's op het amylase tijdens het secretieproces. Dit mede omdat PRP's in vrij hoge hoeveelheid aangetoond zijn in membranen van de zymogeen granula in de gl. parotis.

Histidinerijke eiwitten

In speeksel wordt een groep histidinerijke eiwitten aangetroffen (Baum et al., 1976). Een van deze eiwitten werd gekarakteriseerd als een eiwit met een hoge affiniteit voor hydroxylapatiet (Hay, 1975). Een fysiologische rol voor deze eiwitten is niet bekend. De heterogeniteit binnen deze groep wordt toegeschreven aan proteolyse na de secretie.

Agglutinatiefactoren

Vaststaat dat de plaque wordt gevormd door de hechting van micro-organismen aan de pellicel, een eiwitlaag op het tandoppervlak (Juriaanse,

1979). Het is duidelijk dat deze eiwitten, of beter glycoproteïnen, de vorming van plaque kunnen beïnvloeden. Waarschijnlijk is de aanhechting van micro-organismen aan de pellicel een selectief proces (Clark, Bamman en Gibbons, 1978). Bovendien bleken speekselcomponenten de aanhechting veel sterker te beïnvloeden dan de synthese van extracellulaire polysacchariden (Clark en Gibbons, 1977), waarvan de stimulering ook een grote rol zou hebben bij de plaquevorming.

Aangezien er geen selectieve adhesie van micro-organismen ontstaat in het geval dat er een willekeurig eiwit, zoals albumine, aan het glazuuroppervlak zit en wel indien er een uit speeksel afkomstige pellicel aanwezig is, kan worden afgeleid dat speeksel specifieke agglutinatiefactoren bevat. De factoren in speeksel, die de agglutinatie (samenklonteren) van micro-organismen bevorderen, laten zich moeilijk onderzoeken, aangezien zij zeer grote moleculen zijn waarvoor nog weinig geschikte analyse-technieken bestaan. In het algemeen kan worden gezegd, dat deze stoffen glycoproteïnen zijn. Zo leverde een gedeeltelijke analyse van macromoleculen met agglutinatie-activiteit het beeld op van grote, min of meer structuurloze glycoproteïnen. Deze stoffen vertoonden bovendien een grote affiniteit voor het hydroxylapatiet (Hay, Gibbons en Spinell, 1971).

Uit studies van Ericson en Magnusson (1976) blijkt dat de agglutinatiefactoren voor verschillende micro-organismen behalve in samenstelling ook variëren in affiniteit voor het hydroxylapatiet. De agglutinatiefactoren voor *Streptococcus sanguis* en *Streptococcus mutans* (serotype d) vertoonden de grootste affiniteit. Deze micro-organismen worden ook aangetoond in de jonge plaque.

De agglutinatiefactoren komen in alle soorten speeksel voor, hoewel meer in de sereuze secreties. Hun activiteit is afhankelijk van calcium en optimaal tussen pH 5 en 7.5. Van sommige agglutinatiefactoren kan de activiteit beïnvloed worden door enzymen. Zo resulteert de behandeling van een bepaalde agglutinatiefactor in een ge-

deeltelijk verlies van activiteit als siaalzuur wordt afgesplitst (McBride en Gisslow, 1977).

Ondanks de grote rol die aan glycoproteïnen wordt toegedacht bij de interactie tussen micro-organismen en glazuur enerzijds en tussen micro-organismen onderling anderzijds, blijkt dat er ook een hechting van bacteriën aan glazuur optreedt in afwezigheid van de speekselfactoren. Bovendien vormt zich tussen de cel en het glazuropervlak een pellicel-achtige laag als een soort intermediair. Deze laag moet afkomstig zijn van de geadsorbeerde cel en wordt gevormd onafhankelijk van het feit of de cel in een speekselvrij of speekselhoudend milieu is gekweekt (Tinanoff, Tanzer en Friedman, 1978). Dit houdt in dat de agglutinatiefactoren van het speeksel niet strikt noodzakelijk zijn voor de hechting aan glazuur. Er kon worden aangetoond dat deze eigenschap, de vorming van de extracellulaire laag, niet aanwezig was bij cellen die niet in de mond voorkwamen, zoals de *S. faecalis*. Ook bij de veroudering van de plaque spelen deze agglutinatiefactoren een rol. Als de jonge plaque eenmaal is gevormd, treedt er een verouderingsproces op. Dit gaat gepaard met een verlies aan siaalzuur in de plaquematrix. Het gevolg hiervan is een verder onoplosbaar worden van de matrix (Leach, 1964). De rol van de agglutinatiefactoren lijkt af te nemen naarmate de plaque ouder wordt. De dan aanwezige micro-organismen hebben dan nl. zoveel extracellulaire polysaccharide gesynthetiseerd, dat deze bepalend worden voor de verdere aangroei van de plaque. Waarschijnlijk hebben de speekselagglutinatiefactoren hun duidelijkste rol bij de vorming van de jonge plaque. Zij beïnvloeden de agglutinatiefactoren van micro-organismen in de mond en geven de specificiteit aan de eerste interactie van de pellicel met de micro-organismen. Een significante correlatie tussen de agglutinatiefactoren van speeksel en de snelheid van plaquevorming in vivo kon overigens tot heden niet worden aangetoond.

Behalve een rol bij de bovenbeschreven processen is het waarschijnlijk, dat de glycoproteïnen een bepalende

factor zijn voor de ionconcentraties in de plaquevloeistof. Zoals bekend zijn de ionconcentraties in plaquevloeistof hoger dan in speeksel (Tatevossian en Gould, 1976). De grote hoeveelheid geladen groepen op de glycoproteïnen speelt de grootste rol in de aantrekking van geladen tegenionen. Dit kan verklaren dat de buffercapaciteit van de plaquevloeistof $10\times$ zo groot is als die van speeksel (Tatevossian, 1977).

Speekseiwitten en tandsteen

Niet alleen kunnen in speeksel calciumbindende eiwitten worden aangetroffen, er zijn ook vele zogenaamde 'calcium precipitable proteins' (CaPP) beschreven. Dit zijn eiwitten, die onder toevoeging van calcium aan speeksel een neerslag geven. Dit proces zou op kunnen treden bij de vorming van de pellicel, maar vooral in de plaque. Zodra een zuurstoot een gedeelte van het glazuur oplost, komt er calcium vrij, dat samen met plaquematrixmoleculen een neerslag geeft.

Enkele eiwitten die onder invloed van calcium een neerslag vormen zijn geïsoleerd (b.v. Belcourt, 1975); het blijken zure glycoproteïnen te zijn met $\pm 20\%$ zure aminozuren en 10% suikers. Grote overeenkomsten werden gevonden tussen dit glycoproteïne en het belangrijkste eiwit uit de plaquematrix. Daarnaast blijken ook kleine zure fosfoproteïnen een neerslag met calcium te vormen (Boat et al., 1974). Deze eiwitten kunnen een belangrijke rol spelen bij de vorming van tandsteen. Een van de theorieën om tandsteenvorming te verklaren zegt dat deze eiwitten een zodanige omgeving creëren, dat kristalgroei aan het molecuul mogelijk wordt als gevolg van een conformatieverandering van het eiwit aan het oppervlak.

Een andere theorie is, dat onder invloed van het eiwit er een zodanige lokale concentratieverhoging optreedt, dat er spontane kristalvorming op kan treden wegens lokale oververzadiging. Het zou interessant zijn te weten of personen die snelle tandsteenvormers zijn, lagere gehalten aan de calciumbindende eiwitten (zoals hierboven beschreven) hebben.

Leach (1977) betwijfelt deze theorieën aangezien er geen neerslagen gevormd worden als speeksel zeer uitputtend gedialyseerd wordt. Dit duidt erop, dat er onder de omstandigheden waarin eiwitneerslagen gevonden worden eerst een calciumfosfaat neerslaat, waaraan vervolgens eiwitten geadsorbeerd worden. Kristallieten konden inderdaad ter bevestiging van deze veronderstelling in het calcium-eiwitneerslag worden aangetoond.

Opgemerkt moet worden, dat naast deze theorie nog andere theorieën bestaan in verband met tandsteenvorming, maar deze vallen buiten het onderwerp van dit artikel.

Slotopmerkingen

Uit het voorafgaande blijkt, dat de glycoproteïnen op veel processen in de mond hun invloed uitoefenen. Hun rol blijft niet beperkt tot de 'glijmiddel-functie' of het verzorgen van een eerste stap in de spijsvertering door speekselamylase.

Het wordt duidelijk dat de speekseiwitten diverse functies vervullen rond het tandoppervlak zowel als in het speeksel zelf. Van de functies in het speeksel zelf zijn de enzymen en hun activiteit, alsmede de beïnvloeding daarvan de belangrijkste (zie b.v. de paragraaf PRP's).

Een veel groter aantal functies kan worden onderkend rond het oppervlak. Zo werden de calcium- en fosfaat-bindende eiwitten beschreven met een stabiliserende werking op de oververzadiging van speeksel aan calcium en fosfaat. Eiwitten, die neerslagen vormen onder invloed van calcium spelen mogelijk een rol bij de vorming van tandsteen of in de plaquematrix.

Een andere rol van speekseiwitten aan het oppervlak is die van de agglutinatiefactoren: stoffen die agglutinatiefactoren van micro-organismen veroorzaken en zelf een hoge affiniteit voor het hydroxylapatiet vertonen.

Zoals uit het voorgaande moge blijken wordt langzamerhand meer bekend over samenstelling van het speeksel, terwijl ook ideeën worden ontwikkeld omtrent de functie van de verschillende speekseiwitten. Toch blijven nog

vele vragen open. Te verwachten valt, dat het onderzoek zich voornamelijk zal gaan richten op de volgende vragen:

1. Hoe gedragen de speekseiwitten zich ten opzichte van het oppervlak, welke functie hebben ze daar en hoe verrichten ze die. Op het ogenblik is het niet duidelijk hoeveel en welke eiwitten geadsorbeerd worden en hoeveel een sterkere ionbindende werking hebben. Onbekend is of dezelfde eiwitten verschillende functies hebben, zoals in pellicelvorming, tandsteen-vorming of stabilisatie van oververzadigd speeksel, of dat er aparte eiwitten betrokken zijn bij deze verschillende verschijnselen. Kennis van de rol van deze stoffen zou, gecombineerd met een eenvoudige analyse, therapieën mogelijk maken, bijvoorbeeld tegen tandsteen.

2. Daarnaast zal veel aandacht besteed gaan worden aan de werking en samenstelling van de agglutinatiefactoren. Fundamenteel onderzoek naar structuur en functie is hard nodig om hun werking en belang naar waarde te kunnen schatten. Pas dan kunnen in een klinische situatie verbanden worden gelegd tussen agglutinatiefunctie en plaquevorming in vivo. Als deze gegevens bekend zijn en eenvoudige analyses voorhanden om de agglutinatiefunctie te bepalen, zal er ook zicht komen op preventieve adviezen, die aan patiënten met snelle plaquevorming kunnen worden verstrekt.

3. Een interesseveld dat in deze publicatie slechts zijdelings is behandeld, maar waarop toch de nodige resultaten te verwachten zijn, is het toepassen van enzymen zoals lactoperoxydase. De kennis van het werkingsmechanisme van de natuurlijke afweersystemen zal de mogelijkheid bieden om ze te activeren, hetgeen een effectievere defensie tot gevolg heeft.

Summary:

Title: Some functions of salivary proteins. Saliva contains many glycoproteins. Up to now little is known about the function of these proteins. Functions that can be distinguished are

those of enzymes (digestion, defence) and pellicle formation. Glycoproteins play a role in stabilising the situation around the enamel surface, because they have the possibility to bind calcium and phosphate ions.

The glycoproteins which show agglutination activity are specific in their function, and differ in affinity for the hydroxyapatite surface.

The adsorbed proteins probably play a role in calculus formation.

It is still unknown how many or which proteins play a role in the several processes mentioned above. Many of the proteins are only known by their chemical analysis, while no biological function is known yet.

Future research will most likely be concentrated on ion binding properties, agglutination activity and the combination of these functions at the enamel surface.

Literatuur:

1. Azen E. A. (1977): Genetic polymorphisms in human saliva: an interpretive review. *Biochemical Genetics* 16: 79-99.
2. Azen E. A. (1978): Salivary peroxidase activity and thiocyanate concentrations in human subjects with genetic variants of salivary peroxidase. *Archs Oral Biol* 23: 801-805.
3. Balekjian A. Y., Meyer T. S., Montague M. E., Longton R. W. (1975): Electrophoretic patterns of parotid fluid proteins from caries resistant and caries susceptible individuals. *J Dent Res* 54: 850-856.
4. Baum B. J., Bird J. L., Millar D. B., Longton R. W. (1976): Studies on histidine rich polypeptides from human parotid saliva. *Archs Biochem Biophys* 177: 427-436.
5. Belcourt A. (1975): Etude d'une glycoprotéine salivaire humaine précipitable par les ions de calcium. *Eur J. Biochem* 53: 185-191.
6. Bennick A., Wong R., Cannon M. (1977): Structure and biological activities of salivary acidic proline rich phosphoproteins. In: Calcium binding proteins and calcium function. Wasserman et al. (ed) North Holland NY. Pp. 391-400.
7. Clark W. B., Bamman L. L., Gibbons R. J. (1978): Comparative estimates of bacterial affinities and adsorption sites on hydroxyapatite surfaces. *Infection and Immunity* 18: 514-523.
8. Degand P., Aubert J. P., Boersma A., Richet C., Louscheux-Lefèbvre M. H., Riserte G. (1976): Parotid amylase: a possible role for proline rich proteins. *FEBS letters* 63: 137-140.
9. Grøn P. (1973 a): The state of calcium and inorganic orthophosphate in human saliva. *Archs Oral Biol* 18: 1365-1378.
10. Grøn P. (1973 b): The demonstration of a dicalcium phosphate stabilising factor in human saliva. *Archs Oral Biol* 18: 1379-1383.
11. Grøn P., Hay D. I. (1976): Inhibition of calcium phosphate precipitations by human salivary secretions. *Archs Oral Biol* 21: 201-205.

12. Hay D. I. (1975): The fractionation of human parotid salivary proteins and the isolation of a histidine rich acidic peptide which shows a high affinity for hydroxyapatite surfaces. *Archs Oral Biol* 20: 553.
13. Hay D. I., Gibbons R. J., Spinell D. M. (1971): Characteristics of some high molecular weight constituents with bacterial aggregating activity from whole saliva and dental plaque. *Caries Res* 5: 111-123.
14. Hay D. I., Schlesinger D. H. (1977): Human salivary statherin: a peptide inhibitor of calcium phosphate precipitations. In: Calcium binding proteins and calcium function. Wasserman et al. (ed.) North Holland NY. Pp. 401-408.
15. Hoogendoorn H. (1978): Bacterieremmende systemen in het speeksel. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 85: 404-405.
16. Juriaanse A. C. (1979): De pellicel, eiwitlaag tussen glazuur en plaque. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 86: 2-5.
17. Juriaanse A. C., Booij M. (1979): Isolation and partial characterisation of three acidic proteins from human submandibular saliva. *Archs Oral Biol* geaccepteerd voor publicatie.
18. Leach S. A. (1964): Some observations on the state of sialic acid in human saliva. *Archs Oral Biol* 9: 461.
19. Leach S. A. (1977): The nature of the material precipitated in saliva by calcium. *J Dent Res* 56: A83, abstract 163.
20. Levine M. J., Ellison S. A., Bahl O. P. (1973): The isolation from human parotid saliva and partial characterisation of the protein core of a major parotid glycoprotein. *Archs Oral Biol* 18: 827-837.
21. Mac Bride B. V., Grisslow M. T. (1977): Role of sialic acid in saliva induced aggregation of streptococcus sanguis. *Infection and Immunity* 18: 35-40.
22. Ørstavik P., Brantzaeg (1975): Secretion of parotid IgA in relation to gingival inflammation and dental caries experience in man. *Archs Oral Biol* 20: 701-704.
23. Pruitt K. M., Adamson M. (1977): Enzyme activity of salivary lactoperoxidase adsorbed to human enamel. *Infection and Immunity* 17: 112-116.
24. Rölla G., Jonsen J. (1967): The calcium binding effect of a human salivary glycoprotein. *Caries Res* 1: 343.
25. Shannon I. L., Terry J. M. (1965): A higher parotid fluid flow rate in subjects with resistance to caries. *J Dent Med* 20: 128-132.
26. Tatevossian A. (1977): Buffering capacity in human dental plaque fluid. *Caries Res* 11: 216-222.
27. Tatevossian A., Gould C. T. (1976): Methods for sampling and analysis of the aqueous phase of human dental plaque. *Archs Oral Biol* 21: 313 en 319.
28. Termine J. D., Peckauskas R. A., Posner A. S. (1970): Calcium phosphate formations in vitro. *Arch Biochem Biophys* 140: 307-325.