

- on dental amalgam. *J Am Dent Assoc* 86: 652-656.
8. Flögel G. E. (1964): De invloed van de condensatiemethode op de verdeling van kwik in amalgaamrestauraties. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 11: 749-759.
 9. Holst K. (1965): The influence of trituration time on the crushing strength of silver amalgam. *Acta Odontol Scand* 3: 231-238.
 10. Jørgensen K. D. (1964): The influence of temperature on the crushing strength of dental amalgams. *Acta Odontol Scand* 5: 547-556.
 11. Jørgensen K. D. (1965): The effect of delayed condensation upon the crushing strength of amalgam. *Acta Odontol Scand* 3: 271-275.
 12. Jørgensen K. D. (1976): Recent developments in alloys for dental amalgams: their properties and proper use. *Int Dent J* 26: 369-377.
 13. Letzel H. (1972): Adaptatie en tandheelkundige restauratie. Proefschrift Nijmegen.
 14. Lonka A. N. (1977): Compressive strength of high copper amalgams under variable manipulative conditions. Presentation AADR general session, Las Vegas, June.
 15. Mesman Schultz B. A. (1973): Hardheidsmetingen van amalgaamrestauraties. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 5: 167-174.
 16. Phillips R. W. (1973): *Skinner's Science of Dental Materials*. 7th edition W. B. Saunders Company, Philadelphia.
 17. Rodhouse R. H., Paxon P. R. (1970): Thermal changes in dimension of restorative cavities. *J Dent Res* 49: 567-571.
 18. Schoenmakers H. P. L. (1971): Zinkhoudend of zink-vrij amalgaam? *Ned Tijdschr Tandheelkd* 78: 54-58.
 19. Wilson R. T., Phillips R. W., Norman R. D. (1975): Influence of certain condensation procedure upon the mercury content of amalgam restorations. *J Dent Res* 36: 458-461.
 20. Wing G. (1971): Modern concepts for the amalgamrestoration. *Dent Clin North Am* 15: 43-56.

Juli 1978.

Sorbonnelaan 16,
3584 CA Utrecht.

DE INVLOED VAN DE ACTIVERING VAN HET LACTOPEROXYDASE-SYSTEEM IN HET SPEEKSEL BIJ HET ONTSTAAN VAN CARIËS EN CHRONISCH RECIDIVERENDE AFTEN (I)

H. HOOGENDOORN
W. SCHOLTES

*Uit het laboratorium van
AKZO Dental research department*

Trefwoorden: Lactoperoxydase – Cariës – Aften

Inleiding

De betekenis van het speeksel als beschermende factor in de mond is reeds lang bekend. Een van de speekselcomponenten die hierbij een rol speelt, is het lactoperoxydasesysteem. In samenwerking met andere speekselcomponenten zoals lactoferrine en lysozyme, beperkt dit systeem de groei van bacteriën en draagt er toe bij dat een gezonde mondflora kan ontstaan die geen schade toebrengt aan de gastheer. Een op deze wijze door de gastheer geselecteerde en gecontroleerde flora levert op zijn beurt weer een bijdrage tot de verdediging van de gastheer tegen potentieel pathogene micro-organismen. Een voorbeeld van deze bescherming door de mondflora is te vinden in het optreden van schimmelinfecties indien antibiotica of chemotherapeutica de normale flora verstoren.

Het lactoperoxydase-systeem bestaat uit het enzym lactoperoxydase (LPO) dat te zamen met een ander

bestanddeel van het speeksel, thiocyanaat, en met behulp van waterstofperoxyde een bacterie-remmende verbinding (hypothiocyaniet, OSCN^-) vormt. Het waterstofperoxyde wordt gevormd door een aantal facultatief anaërobe bacteriën in de mond. Het is dus duidelijk dat hier sprake is van een wisselwerking tussen de aanwezige micro-organismen en de remmende werking van het speeksel.

Zowel het enzym (LPO) als het zout (thiocyanaat) komen vrijwel altijd in voldoende mate in het speeksel voor en het ligt dus voor de hand dat een onvoldoende remming door het speeksel het gevolg kan zijn van een tekort of relatief tekort aan waterstofperoxyde. Proeven verricht *in vitro*, zowel als *in vivo*, toonden aan dat dit inderdaad het geval is (Hooendoorn, 1974). Tevens kwam hierbij naar voren dat de dosering van waterstofperoxyde uitermate belangrijk is. Bij een geringe onderdosering aan H_2O_2 blijken de actieve bacteriën

Samenvatting:

De werking van de enzymen in de onderzochte tandpasta – Zendium® – berust op het activeren van de bacterie-remmende werking van het speeksel. Hierdoor wordt de zuurvorming en de groei van tandplaque-bacteriën verhindert, waardoor er minder cariës en gingivitis ontstaat. Daarnaast blijkt regelmatig gebruik van deze tandpasta ook een gunstig effect te hebben op het ontstaan en de genezing van aften.

De resultaten van dit dubbelblind, gekruiste onderzoek tonen aan dat er een significante voorkeur bestaat voor de pasta met enzymen. De eerste indruk, verkregen na een langduriger gebruik wijst er op dat 75% van de patiënten gunstig reageert. Hoewel voorlopige cijfers uit Zweden deze indruk versterken, dienen deze gegevens in een verder onderzoek bevestigd te worden. Van belang bij deze waarnemingen is vooral dat de effecten worden verkregen bij vrij en ongecontroleerd gebruik zonder speciale instructies.

de remstof (OSCN^-) te reduceren, terwijl bij overdosering de remstof door ontleding verloren gaat (Hooendoorn et al., 1977).

Geleidelijke vorming van H_2O_2 is dus noodzakelijk voor het reactiveren van het in speeksel aanwezige lactoperoxydase-systeem. Dit kan be-

werkt worden door gebruikmaking van een waterstofperoxyde-vormend enzymstelsel dat b.v. bestaat uit amyloglucosidase en glucose-oxydase.

Zo werd door Koch et al. (1973) aangetoond dat spoelingen met deze enzymcombinatie resulteren in significant minder plaquevorming. Evenzo werd door Hugoson et al. (1974) met behulp van het modelsysteem volgens Von der Fehr et al. (1970), waarbij de omstandigheden buitengewoon cariës-stimulerend zijn, aangetoond dat meer dan 50% reductie van het aantal beginnende cariëslaesies verkregen kan worden.

Het gebruik van mondspoelingen, waarmee deze resultaten werden verkregen, heeft praktische bezwaren. In de eerste plaats behoort het gebruik van mondwaters zeker in Nederland niet tot een bestaande gewoonte en zou dus aangeleerd moeten worden. Het grootste bezwaar is echter dat men de mechanische reiniging mogelijk zou gaan verwaarlozen met alle bekende gevolgen voor het tandvlees.

Op grond van deze overwegingen werd besloten de waterstofperoxyde-vormende enzymen op te nemen in een geschikte tandpasta-basis. De belangrijkste eis hierbij was dat de gewenste concentratie remstof in de mond gevormd wordt tijdens een poetsbeurt zoals men die normaal uitvoert.

In een voorstudie in Zweden bleek dit aanvankelijk ook niet zo eenvoudig realiseerbaar te zijn, doch een aanpassing van de formulering toonde aan dat na het gebruik van deze pasta gedurende ongeveer 6 maanden, reeds een significante cariësreductie werd verkregen. Over het gehele jaar gemeten bedroeg deze vermindering meer dan 20% boven de reductie die men verkrijgt met behulp van fluoride-spoelingen die in Zweden op de scholen worden uitgevoerd. De verwachtingen, indien de pasta gedurende het gehele jaar gebruikt zou zijn, zijn dus veel gunstiger.

Door Rotgans c.s. (1978 a) werd bevestigd dat een vermindering van de bacteriegroei met behulp van deze tandpasta ook resulteert in een betere conditie van het tandvlees. De proef die dubbelblind, gekruist werd uitgevoerd toonde een significant verschil voor de pasta met enzymen, vergeleken met de basispasta.

Met behulp van een dierexperiment, waarbij de tanden van ratten driemaal per week gedurende 20 seconden werden 'gepoetst', werd een cariësreductie van 80% verkregen (Rotgans c.s., 1978 b). De resultaten van langlopende proeven worden binnen niet al te lange tijd verwacht. Onverwachte resultaten bij patiënten met chronisch recidiverende aften duiden aan dat activering van het lactoperoxydase-systeem in het speeksel van deze patiënten een bijzonder heilzame werking had zowel op het ontstaan van aften alsook op de genezing.

Over chronisch recidiverende aften is nog maar weinig met zekerheid bekend. De verwarring begint al met de naamgeving en zoals uit het proefschrift van Theron (1959) blijkt, zijn er in de loop der jaren liefst 41 synoniemen in de literatuur gebruikt. Evenmin bestaat er een eensluidend oordeel over het aantal mensen dat aan aften lijdt; de diverse rapporten vermelden cijfers die er op wijzen dat 15 en 60% van de bevolking er last van heeft (Donatsky, 1973; Olsen et al., 1976). Hierbij dient te worden opgemerkt dat aften in bepaalde populaties (b.v. studenten) meer schijnen voor te komen, zodat deze cijfers sterk worden beïnvloed door de keuze van de geënqueteerde groep. Over de etiologie is zo mogelijk nog minder met zekerheid bekend. Vast staat evenwel, dat het voor vele mensen een irriterende kwaal is. Noodgedwongen hebben zij met het euvel moeten leren leven.

De aanleiding tot dit aften-onderzoek was een aantal opmerkingen van proefpersonen die toevallig ook aan aften leden en deelnamen aan een cariësonderzoek. Zij rapporteerden

dat de aften geheel of praktisch geheel verdwenen. Aanvankelijk werd hieraan weinig aandacht besteed, doch na enkele jaren waren er in totaal ca. 80 personen met aften in een onderzoek betrokken geweest, en bleek ca. 75% gunstig te reageren. Daar een groot aantal van hen nu reeds enkele jaren aftenvrij is, werd het verantwoord geacht een dubbelblind, gekruist onderzoek uit te voeren.

Werkingsmechanisme

Het werkingsmechanisme van de bacterieremming door ons speeksel berust op de vorming van hypothiocyaniet (OSCN⁻) door het enzym lactoperoxydase (LPO) uit thiocynaat en waterstofperoxyde (Hoogenboom et al., 1977). Deze stof oxydeert zwavelhoudende groepen in enzymen die voor de bacteriën nodig zijn bij de glycolyse. De aldus geremde bacteriën kunnen dus geen suikers meer vergisten en vormen dus geen zuren meer; tevens hebben deze bacteriën sterk verminderde weerstand tegen de oxyderende remming door het speeksel.

Wanneer deze geremde bacteriën door een of andere oorzaak, die waarschijnlijk in onze westerse voedingsgewoonten gezocht moet worden, zich herstellen, kunnen zij weer suikers vergisten. Frequent suikergebruik leidt dan vervolgens weer tot weerstandsverhoging van de bacterieel tegen de in het speeksel aanwezige remmende factoren, waardoor de cel actief blijft.

De remmende werking van speeksel is dus meestal wel aanwezig, maar is, gezien het huidige voedingspatroon onvoldoende.

Door nu op regelmatige tijden de remming te herstellen met behulp van een verhoogde concentratie aan natuurlijke remstof, herneemt het speeksel zijn remmende functie.

De groei van bacteriën en de zuurvorming worden zodoende vermindert, hetgeen een positieve invloed heeft op gingivitis en cariës. Het zal duidelijk zijn dat hiermee geen verklaring is gegeven voor de waargeno-

men effecten bij aften-patiënten. Verondersteld kan worden dat er bij aften-gevoelige personen een immunologische reactie wordt opgewekt door stoffen die hetzij door micro-organismen worden gevormd, hetzij ontstaan door autolyse van dode bacteriecellen. Daar het speeksel-systeem de cellen niet doodt maar inactieveert is hierover nog geen uitspraak mogelijk.

Opzet en methodiek van het onderzoek

In overleg en in samenwerking met alle huisartsen, tandartsen en apothekers in Krimpen a/d IJssel werd besloten het onderzoek als volgt uit te voeren. Toegelaten tot het onderzoek werden patiënten die volgens de behandelende huis- of tandarts regelmatig last hadden van recidiverende aften (in het kort omschreven als ulcera met een doorsnede van ongeveer 3 à 4 mm, omgeven door een rode hof en bedekt met een grijs beslag). Verder dienden geen infectieuze ziekten of andere allergische afwijkingen aanwezig te zijn. Uitgesloten werden alle gevallen waarbij twijfel zou kunnen bestaan over de diagnose.

Patiënten wonende buiten de gemeente werden in principe van het onderzoek uitgesloten. Daar een aften-patiënt voor dit euvel slechts zelden zijn arts raadpleegt, werd met medewerking van de lokale pers bekend gemaakt dat men zich voor deelname aan het onderzoek kon wenden tot de tandarts of huisarts.

Aan personen die aan de toelatingseisen voldeden, werd een vragenlijst uitgereikt die ingevuld ingeleverd werd bij de apotheek. De patiënten ontvingen hier in volgorde van binnenkomst een nummer en twee tubes tandpasta vooraf gemerkt met dit nummer en A. Tevens werd een nieuwe vragenlijst afgegeven. Deze laatste diende weer ingevuld te worden ingeleverd als de tandpasta A oprakte. Aansluitend ontving de patiënt nu de B-pasta van hetzelfde nummer en een nieuwe vragenlijst. Teneinde de inlevering van deze laatste lijst te bevorderen werd nogmaals een tandpasta C verstrekt.

Hoewel alle patiënten dus met pasta A begonnen, bestond deze pasta in 50% van de gevallen uit een placebo-pasta. In die gevallen was de bijbehorende pasta B (met hetzelfde nummer) dan de actieve. Omgekeerd werd de pasta A, indien deze de actieve pasta was, opgevolgd door een placebo-pasta B. De verdeling van de volgorde was willekeurig, volgens een 'warlijst'. Pasta C was in alle gevallen pasta met actieve bestanddelen. Bij deze dubbelblinde opzet werd het gewenst geacht de code van de warlijst in gesloten enveloppe in de apotheek te bewaren. Aan de patiënten werd medegedeeld dat

twee pasta's onderling vergeleken zouden worden op hun werkzaamheid tegen aften.

Samenstelling van de testgroepen

Van de 120 patiënten die aanvankelijk door de artsen tot het onderzoek waren toegelaten, vielen 26 patiënten bij het begin van de test af. De oorzaken waren: verhuizing (2), vakantie (6), distributieproblemen voor patiënten buiten Krimpen (3), twijfel over de aard van de klachten (2), administratieve fouten (5) en het ondanks herhaald verzoek niet inleveren van de formulieren over de eerste periode (8).

Vergeleken met de gegevens uit de literatuur, hebben er iets meer vrouwen aan het onderzoek deelgenomen dan men zou verwachten op basis van de landelijke cijfers. Evenzo is de leeftijdsopbouw iets verschoven naar oudere leeftijd. Dit

vindt vermoedelijk zijn oorzaak in de wijze waarop de patiënten zijn benaderd. Zowel de jongeren als de mannen zijn minder geneigd te reageren op een dergelijke oproep in de pers.

Onderling zijn de groepen goed vergelijkbaar zoals blijkt uit tabel I.

De verwerking van gegevens over het optreden van aften is niet eenvoudig. Bekend is, dat in bepaalde jaargetijden de ernst van de klachten kan toe- of afnemen. In verband hiermee werd met behulp van vragenlijsten B en C aan de patiënten gevraagd of er aften waren opgetreden tijdens het gebruik van elk van de pasta's en zo ja, of de tijdsduur van genezing, grootte van de aften en pijnlijke had toe- of afgenomen of gelijk was gebleven. Op deze wijze kan er kwantitatief weinig met zekerheid worden gezegd, doch wel kwalitatief worden vastgesteld of er een positief of negatief effect is.

Tabel I. Geslacht, leeftijdsopbouw en aften-frequentie van de proefpersonen in beide groepen.

	Groep I Act.-Plac.		Groep II Plac.-Act.	
	N	%	N	%
Mannen	17	37%	15	31%
Vrouwen	29	63%	33	69%
Leeftijd: 10	6	13%	4	8%
10-19	11	24%	7	15%
20-29%	11	24%	15	31%
30-39%	10	22%	12	25%
40-49	4	9%	5	10%
50 en ouder	4	9%	3	6%
geen opgave	-	-	2	4%
Aften-frequentie:				
bijna voortdurend	12	26%	14	29%
5-8 maal per jaar	26	56%	27	56%
minder dan 5 maal per jaar	8	18%	7	15%

Tabel II. Verschillen in punten waarop verbetering (of verslechtering) waargenomen werd bij het gebruik van de tweede pasta, min de waargenomen verandering tijdens de eerste pasta.

	Volgorde van de pasta				P eenzijdig
	N	I Placebo II Actief	N	I Actief II Placebo	
Groep a (testperiode 2 × 130 dagen)	25	+ 0,7	24	- 0,1	< 0,082
Groep b (testperiode 2 × 170 dagen)	17	+ 0,8	19	- 0,4	< 0,040
Totaal gecombineerd met χ^2 -toets	42		43		< 0,022

Indien pasta A namelijk gelijk is aan pasta B, mag er geen verschil zijn tussen de volgorde waarin de pasta's gebruikt worden. Seizoensinvloeden en placebo-effecten worden aldus geëlimineerd.

Voor de statistische verwerking werden de deelnemers in drie groepen gesplitst:

a. Deelnemers met een hoog tandpasta-verbruik.

Deze groep gebruikte de verstrekte 240 g tandpasta in ongeveer 130 dagen. Het gemiddelde gebruik ligt in deze groep dus bij ongeveer 2 g pasta per dag. Met elk der verstrekte pasta's werd dus rond 65 dagen gepoetst. Rekening houdend met het sterk variërende karakter van afters, waarbij afters-vrije perioden van enige weken vaak voorkomen, werd deze periode wat kort geacht om een definitieve mening te kunnen vormen. Deze groep werd dan ook achteraf extra geënquêteerd na een langer gebruik van de pasta met enzymen.

b. Deelnemers met een normaal tandpasta-verbruik.

Deze groep gebruikte de verstrekte pasta in ca. 170 dagen hetgeen overeenkomt met ongeveer 1½ g per dag of twee poetsbeurten. Bij een proefduur van ca. 85 dagen is het al wat beter mogelijk een oordeel te vormen.

c. Deelnemers met een zeer laag of onregelmatig tandpasta-verbruik.

Besloten werd deze groep (die het laatste formulier na 200 dagen nog niet had ingeleverd) uit te sluiten, daar er niet op gerekend mag worden, dat een werkzaam niveau aan hypothiocyaniet in het speeksel bereikt kan worden onder deze omstandigheden.

In tabel II zijn deze personen dan ook niet opgenomen.

Daar er op de vragen over grootte, tijdsduur en pijn zowel positief als negatief geantwoord kon worden, kon iedere deelnemer scoren tussen +3 en -3. Door nu de score voor de tweede pasta te verminderen met de score voor de eerste pasta, ontstaat een voorkeur. Een positieve score geeft dus een voorkeur aan voor de tweede pasta. De op deze wijze verkregen cijfers hebben geen enkele betekenis met betrekking tot de mate waarin de klachten zijn veranderd. Indien bijvoorbeeld een deelnemer constateert, dat tijdens de eerste periode de afters verdwijnen, kan hij drie positieve punten geven. Als nu in de tweede periode de afters niet (of nog niet) terugkeren, geeft hij eveneens drie punten. Deze duidelijke verbetering geeft dus geen bijdrage aan de score omdat hij niet in staat was een ver-

schil tussen beide pasta's waar te nemen.

Resultaten

Zoals weergegeven in tabel II, blijkt er een significant verschil te bestaan ($p < 0.025$) tussen beide pasta's met een voorkeur voor de pasta met enzymen. Deze voorkeur is sterker in de groep die de pasta's het langste (n.l. ca. 2×85 dagen) gebruikte.

Na deze vergelijkende testperiode, waarin gepoetst werd met tandpasta A en B, is de 49 deelnemers met een hoog tandpasta-gebruik verzocht een enquêtelijst in te vullen over hun bevindingen over de poetsperiode met de actieve pasta C. Een deel van deze groep had tandpasta B als actieve pasta en kon dus rapporteren over een langer gebruik (ca. 8 maanden). Het doel van deze enquête is het bevestigen van de verwachting dat bij langduriger gebruik van de actieve tandpasta de resultaten gunstiger zullen worden.

De afwezigheid van afters gedurende de laatste tijd, variërend van 80 tot 175 dagen (gemiddeld 132) wordt gemeld door 33% van de ondervraagden. Zo goed als afwezigheid van afters met soms een niet tot ontwikkeling komend plekje, rapporteert 27%. Vermindering van de klachten op de punten grootte, tijdsduur en pijnlijkheid vermeldt 15%. Verbetering die twijfelachtig is en mogelijk op placebo-effecten berust, wordt in 12% opgegeven, terwijl eveneens 12% geen effect waarneemt.

Hierbij willen wij onze dank uitspreken aan de huis- en tandartsen in Krimpen a/d IJssel, evenals de apothekers en assistenten die allen hebben bijgedragen aan dit onderzoek.

N.B. De in dit onderzoek geteste tandpasta was verpakt in witte tubes waarop met groene letters Tandkräm was vermeld. In samenstelling was deze pasta gelijk aan Zendium® die in Finland op de markt verkrijgbaar was. Voor zover de pasta in Nederland niet verkrijgbaar is, kan via de auteur van dit artikel de pasta uit Finland worden verkregen.

Summary:

Title: Activation of the lactoperoxidase system in saliva and the effect on caries and recurrent oral ulcerations.

Lactoperoxidase in saliva is a controlling factor restricting metabolism of many oral bacteria. Clinical studies have shown that when this enzyme system was stimulated, plaque formation was reduced and less dental caries occurred. In one of these clinical studies circumstantial evidence was obtained that in addition

to the effects on plaque and caries, aphthous lesions decreased.

In a double blind, cross over, investigation this evidence could be substantiated. It is indicated that positive effects are obtained in 75% of the patients. These findings are supported by preliminary data obtained in long term studies which are still in progress at this moment.

Literatuur:

1. Donatsky, O. (1973): Epidemiologic study on recurrent aphthous ulcerations among 512 Danish dental students. *Community Dent Oral Epidemiol* 1: 37-40.
2. Fehr, F. R. von der, Loë, H., Theilade, E. (1970): Experimental caries in man. *Caries Res* 4: 131.
3. Hoogendoorn, H. (1974): The effect of lactoperoxidase-thiocyanate hydrogen peroxide on the metabolism of cariogenic microorganisms in vitro and in the oral cavity. Proefschrift Delft.
4. Hoogendoorn, H. (1974): De betekenis van het speeksel bij het ontstaan van cariës. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 81: 225.
5. Hoogendoorn, H., Piessens, J. P., Scholtes, W., Stoddard, L. A. (1977): Hypothiocyanite ion; the inhibitor formed by the system lactoperoxidase - thiocyanate - hydrogen peroxide. *Caries Res* 11: 77-84.
6. Hugoson, A., Koch, G., Thilander, H., Hoogendoorn, H. (1974): Lactoperoxidase in the prevention of plaque accumulation, gingivitis and dental caries (III). *Odontol Rev* 25: 69.
7. Koch, G., Edlund, K., Hoogendoorn, H. (1973): Lactoperoxidase in the prevention of plaque accumulation, gingivitis and dental caries (II). *Odontol Rev* 24: 367.
8. Rotgans, J., Hoogendoorn, H. (1978 a): The effect of toothbrushing with a toothpaste containing amyloglucosidase and glucose oxidase on plaque accumulation and gingivitis. In druk.
9. Rotgans, J., Hoogendoorn, H. (1978 b): The effect of brushing with a toothpaste containing amyloglucosidase and glucose oxidase on dental caries in rats. In druk.
10. Olson, J. A., Nelms, D. C., Silverman, S., Spitzer, L. E. (1976): Levamisole: A treatment for recurrent aphthous stomatitis. *Oral Surg* 41: 588-600.
11. Theron, J. A. (1959): Aphthae with special reference to the chronic recurrent variety of Mikulicz. Proefschrift Groningen.

Juni 1978. Adres: Dr. Ir. H. Hoogendoorn, Fruitweg 25, 2525 KG 's-Gravenhage