

Speeksel: een mondoverstijgende gezondheidsfactor

Diverse speekseiwitten zijn betrokken bij de antimicrobiële afweer in de mondholte.

Zij kunnen een groot aantal micro-organismen, die ons lichaam via de mond binnendringen, onschadelijk maken.

Vandaar dat veranderingen in de speekselsamenstelling niet alleen gevolgen kunnen hebben voor de

mondgezondheid, maar ook voor de totale gezondheid van de mens. Op basis van speekseiwitten zijn inmiddels een

aantal antimicrobiële peptiden gesynthetiseerd, die potentieel als antibiotica kunnen worden toegepast. Deze

antimicrobiële peptiden zijn nauwelijks cytotoxisch en wekken geen of nauwelijks resistentie op.

Nieuw Amerongen A van, Veerman ECI, Brand HS, Vissink A. Speeksel: een mondoverstijgende gezondheidsfactor
Ned Tijdschr Tandheelkd 2006; 113: 176-181

Inleiding

Via de mondholte dringen voortdurend micro-organismen het menselijk lichaam binnen. De afweer tegen deze indringers kent een aantal verschillende niveaus. De eerste verdedigingslinie wordt gevormd door een gezonde, intacte orale mucosa. Deze bestaat uit een epitheliale celbekleding die voor bacteriën een fysieke barrière vormt die moet worden geslecht om in de diepere weefsellagen door te dringen. Deze beschermende functie wordt vergroot door de aanwezigheid van keratine op plaatsen waar gemakkelijk een mechanische beschadiging optreedt. Een goede bevochtiging en lubricatie van de orale mucosa door speeksel zorgt voor een betere weerstand tegen mechanische beschadiging. Verder bevat speeksel een groot aantal eiwitten met antimicrobiële activiteit. Deze lichaamseigen afweer wordt versterkt door de normale orale flora die kolonisatie van (potentieel) pathogene micro-organismen voorkomt.

Vlak onder de basaalmembraan van de orale mucosa bevinden zich grote aantallen lymfocyten en plasmacellen. Deze cellen produceren antilichamen, voornamelijk S-IgA. Een andere belangrijke bron van S-IgA zijn de speekselklieren. Het primaire effect van een antilichaam is de herkenning van een lichaamsvreemde structuur (antigeen) en de binding aan dit antigeen. Hierdoor ontstaat een antigeen-antilichaamcomplex.

De cellulaire afweer is vooral van belang wanneer micro-organismen aan de lokale afweer zijn ontsnapt en in de diepere weefsellagen doordringen. Hier worden de indringers geconfronteerd met fagocyterende cellen die bacteriën kunnen opnemen en vervolgens verteren. Bij deze fagocytose spelen neutrofiële granulocyten en monoccyten de belangrijkste rol. Sommige fagocyterende cellen kunnen stukjes antigeen aan T-lymfocyten presenteren die daardoor worden geactiveerd. De geactiveerde T-lymfocyten

beïnvloeden de activiteit van de fagocyterende cellen en stimuleren B-lymfocyten om IgG te produceren. IgG-antigeen complexen activeren het complementsysteem. Complement is betrokken bij het aantrekken van ontstekingscellen (leukocyten), de lysis van bacteriën en het bevorderen van fagocytair proces (Spijkervet et al, 2000).

Het belang van speeksel bij de bescherming van de mondholte komt duidelijk aan het licht wanneer de speekselklieren geheel of gedeeltelijk uitvallen door ziekte of als bijwerking van bijvoorbeeld radiotherapie (Nieuw Amerongen et al, 2004b). Bij verminderde uitscheiding van speeksel neemt de kans op het ontwikkelen van mondaandoeningen toe. Bacteriën en de daardoor geproduceerde zuren worden niet meer adequaat weggespoeld of geneutraliseerd. Als dan geen rigoureuze preventieve maatregelen worden ingesteld, kunnen de gebitselementen snel aan cariës ten prooi vallen. Bovendien zijn deze patiënten zeer vatbaar voor ontstekingen van de zachte mondweefsels, bijvoorbeeld voor infectie met de opportunistische pathogeen *Candida albicans*. Eén van de oorzaken voor de verhoogde vatbaarheid voor infecties is de afname in de uitscheiding van antimicrobiële eiwitten en peptiden in speeksel. Onder normale omstandigheden bevat speeksel een uiteenlopende verzameling van eiwitten en peptiden die micro-organismen kunnen remmen in hun groei of kunnen doden (Beisswenger en Bals, 2005; Dale et al, 2005). Andere speekseiwitten, waaronder mucinen en agglutinine, hebben een bacterie-klonterende werking of voorkomen de hechting van micro-organismen aan het orale epitheel (Veerman et al, 1997; Ligtenberg et al, 2000).

In dit artikel wordt de bijdrage van een aantal speekselcomponenten aan de mondgezondheid en de algemene gezondheid besproken (Dodds et al, 2005). Daarnaast zal worden ingegaan

op de mogelijke toepassing van antimicrobiële speekselwitten buiten de mond, als aanvulling op, of als alternatief voor, de thans toegepaste antibiotica.

Gezondheidsstoornissen en speeksel

De speekselklieren worden zowel neuronaal als hormonaal gereguleerd. Dit betekent dat het secretieproces sterk beïnvloed wordt door veranderingen in het neuronale systeem en door de hormonale status (Teeuw et al, 2004). Een bekend voorbeeld van neuronale regulatie is de remmende invloed die β -blokkers en anticholinergica hebben op de speekselafgifte. Veel patiënten die deze medicatie gebruiken klagen daarom in meer of mindere mate over een droge mond. Omdat de speekselklieren door deze geneesmiddelen niet worden aangetast, reageren de speekselklieren wel op stimulatie met kauw- en smaakprikkelers.

β -sympathicomimetica, geneesmiddelen die onder andere gebruikt worden bij de behandeling van astma, kunnen in speekselklieren van knaagdieren een celgroeiproces induceren. Deze celgroei resulteert in vergrote speekselklieren, in het bijzonder van de glandula parotidea en de glandula submandibularis. Tevens treedt bij knaagdieren een verandering in genexpressie op. Mucinen en amylase worden onder invloed van β -sympathicomimetica minder gesynthetiseerd; cystatinen en prolinerijke eiwitten komen daarentegen juist tot expressie. Het is onbekend of bij gebruik van β -sympathicomimetica door de mens soortgelijke processen optreden.

Hormonale veranderingen, die onder andere optreden tijdens stressvolle omstandigheden, hebben eveneens invloed op de samenstelling van humaan speeksel (Bosch et al, 2000). Deze effecten zijn afhankelijk van het type stress. Zo leidt psychische stress tot een verhoging van speekselmucinen, die als receptor kunnen fungeren voor *Helicobacter pylori*. Bij fysieke stress, bijvoorbeeld door het deelnemen aan een triatlon, neemt de concentratie en de uitscheiding van speeksel S-IgA dramatisch af (Steerenberg et al, 1997). Hierdoor zou bij langdurige stress de ontvankelijkheid voor infecties kunnen toenemen (Teeuw et al, 2004).

Het is gebleken dat een hiv-infectie, uitmondend in aids, de uitgroei van *Candida albicans* vergroot. In hoeverre daarvoor veranderingen in de speekselafweersystemen verantwoordelijk zijn, is controversieel. Zo zijn er zowel verhoogde als verlaagde concentraties histatine in speeksel van aidspatiënten gerapporteerd.

Bij patiënten met candidiasis zou sprake kunnen zijn van speekselklierhypofunctie. Zowel de concentratie als de output van een aantal antimicrobiële eiwitten en peptiden zijn verlaagd, onder andere van lactoferrine, S-IgA en defensinen (Tanida et al, 2003).

Ten slotte komt uit onderzoeken met ratten naar voren dat de cystatine-activiteit in speeksel toeneemt na het induceren van een mondontsteking. Naar analogie hiervan is voor de mens gerap-

Eiwit	Herkomst speekselklieren	Antimicrobiële activiteit
Agglutinine = DMBT1 – gp-340	Par > SM > SL	Aggregatie; adherentie
Chitinase	Par, SM, SL	Fungicide, waaronder <i>Aspergillus</i>
Cystatinen	SM > SL, lip, palatum	Remmen cysteine proteïnasen
EP-GP = GCDFP-15	SM, >SL, lip, palatum	Remt binding hiv aan CD4-receptor
Immuunglobulinen, m.n. S-IgA	Alle speekselklieren	Specifieke immuunreactie
Lactoferrine	SM > Par	Bindt ijzerionen: bacteriostatisch
Lactoperoxidase	Par > SM	Bacteriostatisch
Lysozym	SL > Par, SM	Doodt grampositieve bacteriën
Mucinen: MUC5B = MG1	SL, lip > SM, palatum	Aggregeert enkele pathogenen
MUC7 = MG2	SM, SL, lip > palatum	Aggregeert vele bacteriën
SLPI		Remt serine proteïnasen
TIMP-1	Par, SM	Remt metalloproteïnasen
VEGh	Von Ebner's klier (tong)	Remt cysteine proteïnasen

Gebruikte afkortingen: DMBT1 = Deleted in Malignant Brain Tumors; EP-GP = ExtraParotid-GlycoProtein; GCDFP-15 = Gross Cystic Disease Fluid Protein, met molecuulmassa 15 kDa; S-IgA = Secretie Immuunglobuline A; MUC5B = hoogmoleculair mucine; MUC7 = laagmoleculair mucine; MG = Mucous Glycoprotein; SLPI = Secretory Leukocyte Proteinase Inhibitor; TIMP = Tissue Inhibitor of MetalloProteinases; VEGh = human Von Ebner Gland protein; Par = glandula parotidea; SM = glandula submandibularis; SL = glandula sublingualis

Tabel 1. Antimicrobiële speekselwitten.

porteerd dat bij patiënten met gingivitis en parodontitis de cystatine-activiteit in speeksel is verhoogd (Henskens et al, 1996).

Antimicrobiële eiwitten

Speeksel bevat een groot aantal eiwitten met antimicrobiële activiteit (tab. 1) (Van Nieuw Amerongen et al, 2004a; Van Nieuw Amerongen, et al 2004b). Wat hun werking betreft, kunnen 2 hoofdgroepen worden onderscheiden. Een eerste groep wordt gevormd door eiwitten die interfereren met de binding van micro-organismen aan orale weefsels, een cruciale stap in het kolonisatieproces. Een tweede groep bestaat uit eiwitten met een bacteriostatische of bactericide activiteit.

Tot de eiwitten die de hechting aan orale weefsels remmen behoren onder andere laagmoleculair mucine MUC7, speeksel-agglutinine, secretie-IgA en – in veel mindere mate – IgM (Van Nieuw Amerongen et al, 1995). MUC7 en agglutinine zijn betrokken bij de aggregatie (samenklontering), omkapseling en adherentie van micro-organismen (Lamont et al, 1991; Groenink et al, 1999a; Ligtenberg et al, 2000). Deze moleculen hebben een breed bindingsspectrum, dat wil zeggen dat zij een groot aantal verschillende micro-organismen binden. Immuunglobulinen hebben een vergelijkbare werking, maar elk immuunglobuline is gericht tegen één specifieke antigene determinant op één micro-organisme. Aangezien speeksel een groot aantal verschillende immuunglobulinen bevat, elk gericht tegen een ander antigeen, hebben zij gezamenlijk ook een breed bindingsspectrum.

Speeksel bevat een breed scala aan eiwitten met een bacteriostatische of bactericide werking. De enzymen lysozym en chitinase kunnen specifieke suikerbindingen splitsen in de celwand van bacteriën respectievelijk schimmels en gisten (Van Steijn et al, 2002). Tevens bevat speeksel antimicrobiële eiwitten en peptiden, zoals SLPI, LL-37, defensinen en histatinen, die de membraan van bacteriën en schimmels poreus kunnen maken (afb. 1) (Den Hertog et al, 2005). De antivirale werking van cystatinen lijkt te

berusten op de proteaseremmende activiteit. Cystatinen hebben ook een bacteriedodende activiteit die, net als die van SLPI, los staat van hun antiprotease werking. Vooral de groei van *Porphyromonas gingivalis* wordt door cystatinen geremd (Blankenvoorde et al, 1996).

In speeksel bevindt zich ook het zogenaamde EP-GP (Extra-Parotid-GlycoProtein), dat voornamelijk afkomstig is uit de glandula submandibularis (Schenkels et al, 1997). Deze glycoproteïne kan zich hechten aan het CD4-molecuul op T-lymfocyten, de receptor van het hiv-virus. Het hiv-virus kan dan niet langer de T-lymfocyt binnen gaan (Van Nieuw Amerongen et al, 2004b). Andere eiwitten, zoals mucinen en cystatinen, dragen op verschillende wijzen bij aan de inactivatie van hiv in speeksel (Bolscher et al, 2002).

Hoewel in tabel 1 een aantal speekseiwitten staat vermeld met antimicrobiële activiteit, wordt het steeds duidelijker dat veel

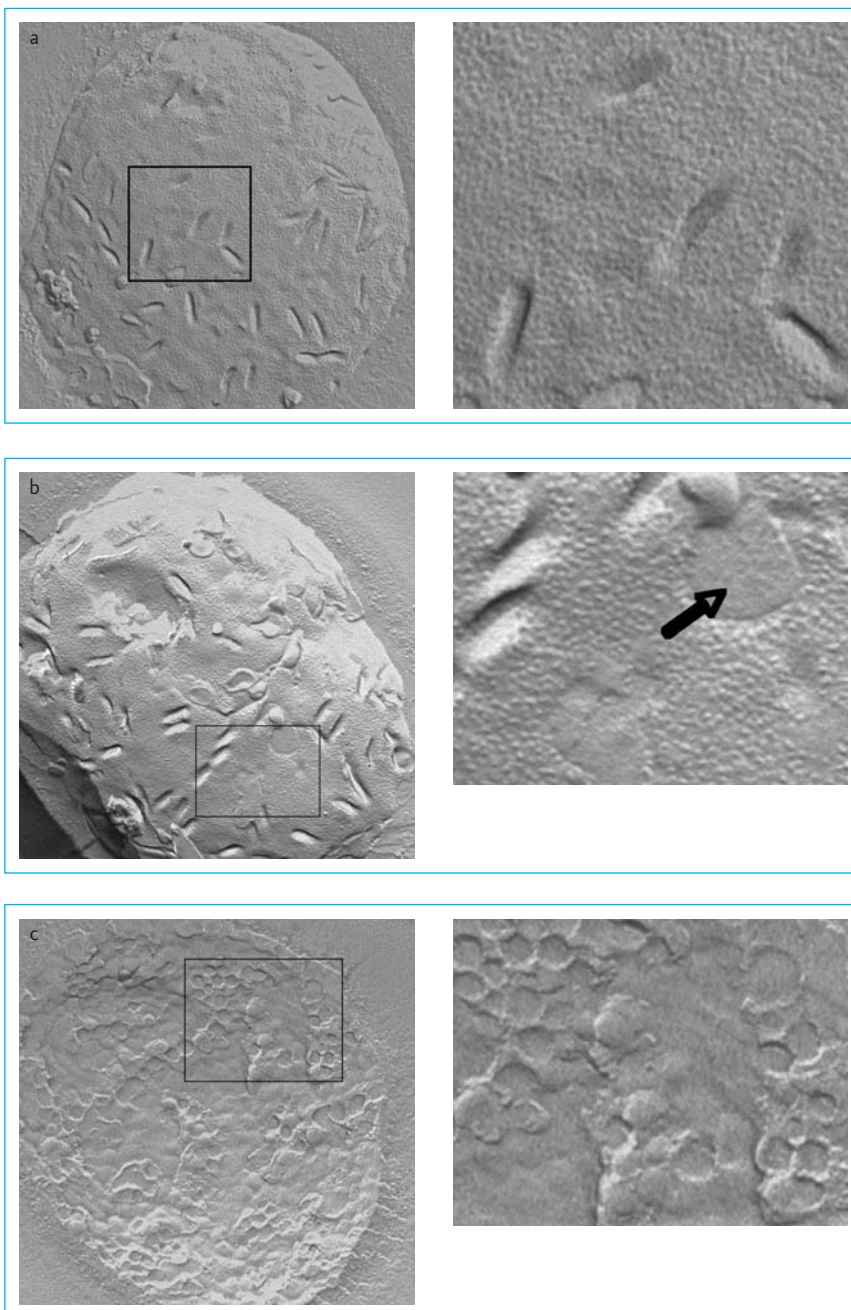
van deze eiwitten multifunctioneel zijn. Zo heeft lactoferrine naast antimicrobiële activiteit ook een ontstekingsremmende werking en antitumoractiviteit (Legrand et al, 2004; Varadachary et al, 2004). Ook zou lactoferrine de wondheling en de botgroei bevorderen (Cornish, 2004; Norrby, 2004).

Antimicrobiële peptiden

Een groep speekseiwitten die de laatste jaren meer in de belangstelling is komen te staan, zijn de antimicrobiële peptiden (tab. 2). Het afgelopen decennium is vooral aan histatinen uitvoerig onderzoek verricht. Histatinen worden vrijwel uitsluitend door de speekselklieren uitgescheiden en hebben een breedspectrum activiteit tegen micro-organismen, waaronder *Streptococcus mutans* en *Candida albicans* (Helmerhorst et al, 1997; Gusman et al, 2001). Bovendien bevat speeksel ook β -defensinen en een cathelicidine: LL-37 (Den Hertog et al, 2005). Deze moleculen

zijn gedeeltelijk afkomstig uit de speekselklieren, maar neutrofielen en epitheelcellen leveren eveneens een bijdrage (Dale en Krisanaprakornkit, 2001). Defensinen komen verhoogd tot expressie bij parodontale ontstekingen (Bissell et al, 2004).

Uit sommige grotere eiwitten, die zelf bacteriostatisch zijn, kunnen door enzymatische stappen afbraakproducten met antimicrobiële activiteit worden vrijgemaakt, zoals lactoferrine (zie afb. 2). Er zijn verschillende speekseiwitten bekend waaruit dergelijke domeinen afgesplitst kunnen worden. Van humaan lactoferrine kunnen de eerste 11 aminozuren worden afgesplitst (Groenink et al, 1999b). Het peptide dat hierbij ontstaat, aangeduid als hLF(1-11), doodt effectief de multiresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Faber et al, 2005). Deze gevreesde 'ziekenhuisbacterie' kan vooral bij immuungecompromitteerde patiënten infecties veroorzaken. Het peptide hLF(1-11) doodt ook de pathogene *Acinetobacter baumannii* (Dijkschoorn et al, 2004). Van cystatine kan een N-eindstandig peptide, bestaande uit 8 aminozuren, worden afgesplitst dat specifiek remmend werkt op *Porphyromonas gingivalis*. In tegenstelling tot cystatine heeft dit peptide zelf geen proteaseremmende werking (Blankenvoorde et al, 1996). LL-37, het C-eind-



Afb. 1. Ultrastructurele effecten van histatine-5 en LL-37 op de celmembranen van *Candida albicans*. De membranen van *Candida albicans* worden door de antimicrobiële peptiden verstoord en tijdelijk poreus gemaakt, waarna de cellen leegstromen en afsterven (Den Hertog et al, 2005).

- a. De membraan van onbehandelde *Candida*-cellen.
- b. Na inwerking van histatine-5.
- c. Na inwerking van LL-37.

Tabel 2. Antimicrobiële speekselpeptiden.

Peptide	Herkomst	Antimicrobiële activiteit
Cathelicidine / CAP18 / LL-37 Defensinen	Speekselklieren; neutrofielen Speekselklieren; neutrofielen; epitheelcellen	Doodt bacteriën, schimmels en gisten Doden bacteriën, schimmels en gisten
Histatinen	Par, SM > palatum	Doden bacteriën, schimmels en gisten
Lactoferrine-peptiden	Speeksel (?); maagsap	Doden bacteriën, schimmels en gisten
MUC7-peptiden	Speeksel (?)	Doden bacteriën, schimmels en gisten

Afkortingen: CAP18 = Cathelicidine Protein, molecuulmassa 18 kDa; LL-37 = Carboxyleindstandig peptide van CAP18 bestaande uit 37 aminozuren, beginnend met twee Leucine (L) residuen.

standige domein van het cathelicidine CAP18, bestaat uit 37 aminozuren en heeft sterke antimicrobiële effecten (Den Hertog et al, 2005). LL-37 doodt *Candida albicans* effectief (zie afb. 1), het neutraliseert bacterieel toxine en het trekt neutrofielen aan (Ciornei et al, 2005; Sorensen en Borregaard, 2005).

In hoeverre dit soort antimicrobiële peptiden *in vivo* wordt vrijgemaakt uit moedermoleculen is nog onduidelijk. De verhoogde proteolytische activiteit in speeksel en crevulaire vloeistof die optreedt bij orale ontstekingen, zou deze afsplitsing mogelijk kunnen maken. Opmerkelijk is dat uit het speekselwit lactoferrine na inwerking van het maagenzym pepsine een antimicrobieel domein vrijkomt, het lactoferricine (Van der Kraan et al, 2005). De observatie dat lactoferrine na parenterale toediening bacteriële infecties in proefdieren kon genezen, maar niet na intramusculaire toediening, suggereert dat fragmenten van speekselwitten ook buiten de mond een beschermende invloed kunnen uitoefenen (Farnaud et al, 2003).

Hoewel de antimicrobiële peptiden een heterogene groep moleculen vormen, hebben ze als gemeenschappelijk kenmerk een zogenaamde amfipathische structuur. Hierbij bevat een molecuul een positief geladen domein en een hydrofoob domein. Deze domeinen zijn ruimtelijk van elkaar gescheiden. Door deze combinatie van domeinen kunnen deze peptiden gemakkelijk binnendringen in de negatief geladen fosfolipide dubbelmembran van micro-organismen (Brogden, 2005). Dit verstoort de integriteit van de bacteriële membraan, waardoor laagmoleculaire stoffen als ATP en NADH weglekken. Het verlies van deze vitale cellulaire componenten leidt uiteindelijk tot sterfte van het micro-organisme (Den Hertog et al, 2005).

Aangezien de binding aan de membraan berust op elektrostatistische interacties werken de antimicrobiële speekselpeptiden en de daarvan afgesplitste peptiden allemaal aselectief: *in vitro* blijkt een groot aantal verschillende micro-organismen te worden aangetast. Daarentegen is de antimicrobiële werking van deze peptiden *in vivo* niet optimaal. De biologische activiteit *in vivo* wordt vermoedelijk verminderd door in lichaamsvloeistoffen aanwezige zouten, voornamelijk calciumionen.

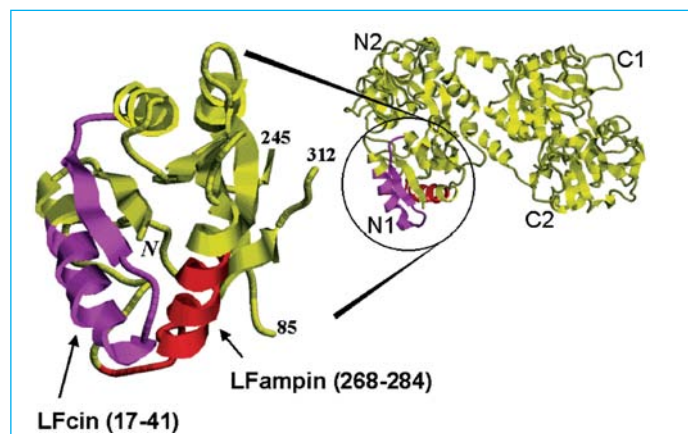
Recent zijn aanwijzingen verkregen dat deze peptiden naast de directe bacteriedodende werking *in vivo* mogelijk nog een andere rol kunnen spelen bij de afweer. Zij zouden ook een chemotactische werking hebben, de proliferatie van epitheelcellen bevorderen en de expressie van cytokinen stimuleren.

Toepassing van antimicrobiële peptiden als nieuwe antibiotica

Aangezien het gebruik van de klassieke antibiotica wereldwijd enorm is toegenomen, bestaat ook een grote toename in het voorkomen van resistente microbiële stammen. Vandaar dat wordt gezocht naar antibiotica die geen of weinig resistentie zullen oproepen (Van Nieuw Amerongen et al, 2003; Hiemstra et al,

2004). Eén van de mogelijkheden voor een nieuwe klasse van antibiotica vormen de antimicrobiële peptiden (Gordon en Romanowski, 2005). Omdat het veelal kleine peptiden betreft, kunnen zij relatief gemakkelijk worden gesynthetiseerd. Van deze peptiden is bekend dat zij niet of nauwelijks resistentie *in vitro* opwekken, omdat zij voornamelijk fysisch-chemisch op microbiële membranen werken. De klassieke antibiotica werken juist op het cellulaire metabolisme, waartegen resistentie kan worden ontwikkeld. Omdat het werkingsmechanisme van de antimicrobiële peptiden zo sterk afwijkt van de klassieke antibiotica, kunnen zij ook aan de klassieke antibiotica worden toegevoegd. Men kan dan een synergistisch effect verwachten. Van histatine-5 is bijvoorbeeld bekend dat het met amfotericine B synergistisch werkt tegen *Candida albicans* (Van 't Hof et al, 2000). Evenzo werkt het MUC7-peptide synergistisch met miconazol op *Candida albicans* (Wei en Bobek, 2004). Aangezien verschillende antimicrobiële peptiden bacterieel endotoxine kunnen binden, is gesuggereerd dat LL-37 en lactoferrine

Afb. 2. Schematische weergave van de ruimtelijke structuur van lactoferrine. Lactoferrine is opgebouwd uit bijna 700 aminozuren. De eerste 41 aminozuren kunnen in de maag door pepsine worden afgesplitst. Dit peptide, aangeduid met Lfcin, lactoferricine, is paars weergegeven. Het bezit een dodende activiteit voor een groot aantal micro-organismen. Het domein 268-284, in rood weergegeven, kan met een enzym uit lactoferrine worden losgeknipt en bezit eveneens bacteriedodende activiteit. Dit peptide wordt aangeduid met lactoferrampin, Lfampin. Het bacteriostatische moedermolecuul van lactoferrine bevat dus meerdere bacteriedodende domeinen die na enzymatische bewerking kunnen vrijkomen (met dank aan dr. M.I.A. van der Kraan).



ingezet kunnen worden bij de behandeling van een sepsische shock (Ciornei et al, 2005; Andersen, 2004). Recombinant lactoferrine wordt ook onderzocht bij (long)ontstekingen en op gunstige effecten bij de wondgenezing van diabetespatiënten (Engelmayer en Varadhachary, 2003). Daarnaast zou lactoferrine therapeutisch kunnen worden toegepast bij de bestrijding van osteoporose en voor groeiremming van tumoren (Engelmayer en Varadhachary, 2003; Cornish, 2004). Histatine-5 en een variant daarvan, aangeduid met P113, worden getest op mogelijke toepassing bij de bestrijding van gingivitis. Zowel Histatine-5 als P113 lijken een gunstig effect te hebben op de ontwikkeling van gingivitis (Situ en Bobek, 2000; Van Dyke et al, 2002).

Concluderende opmerkingen

Bij de bestrijding van mondinfecties is een breed scala aan antimicrobiële eiwitten en peptiden betrokken. De meeste van deze eiwitten en peptiden hebben een brede werkingsspecificiteit. Hoewel de antimicrobiële activiteit van de individuele eiwitten in de mondholte een stuk lager is dan onder gunstige laboratoriumomstandigheden, zorgen zij gezamenlijk voor een evenwichtssysteem in de mondholte. Door dit evenwichtssysteem wordt kolonisatie van de mondholte door pathogenen zoveel mogelijk geweerd. Onder pathologische omstandigheden, waarbij de speekselsecretie is verminderd, neemt het risico van mondinfecties dan ook toe. De antimicrobiële eiwitten en peptiden spelen ook een rol bij het voorkomen van infecties elders in het lichaam.

Op basis van antimicrobiële eiwitten en peptiden die in speeksel aanwezig zijn, zijn verschillende synthetische antimicrobiële peptiden gemaakt. Momenteel vindt onderzoek plaats of deze peptiden toegepast kunnen worden bij de behandeling van infecties met bacteriën, gisten, schimmels en virussen (Van 't Hof et al, 2001). Een belangrijke drijfveer hierachter is dat micro-organismen nauwelijks resistentie tegen deze peptiden lijken te ontwikkelen. Daarnaast lijkt het risico van toxische reacties gering omdat de antimicrobiële peptiden door het menselijk lichaam worden afgebroken tot aminozuren, op dezelfde wijze als de natuurlijke eiwitten.

Literatuur

- Andersen JH. Technology evaluation: rh lactoferrin, Agennix. *Curr Opin Mol Ther* 2004; 6: 344-349.
- Beisswenger C, Bals R. Functions of antimicrobial peptides in host defense and immunity. *Curr Protein Pept Sci* 2005; 6: 255-264.
- Bissell J, Joly S, Johnson GK, et al. Expression of beta-defensins in gingival health and in periodontal disease. *J Oral Pathol Med* 2004; 33: 278-285.
- Blankenvoorde MFJ, Henskens YMC, Hof W van 't, Veerman ECI, Nieuw Amerongen A van. Inhibition of the growth and cysteine proteinase activity of *Porphyromonas gingivalis* by human salivary cystatin S and chicken cystatin. *Biol Chem* 1996; 377: 847-850.
- Bolscher JGM, Nazmi K, Ran LJ, et al. Inhibition of HIV-1 IIIB and clinical isolates by human parotid, submandibular, sublingual and palatine saliva. *Eur J Oral Sci* 2002; 110: 149-156.
- Bosch JA, Geus EJC de, Ligtenberg TJM, et al. Salivary MUC5B-mediated adherence (*ex vivo*) of *Helicobacter pylori* during acute stress. *Psychosom Med* 2000; 62: 40-49.
- Brogden KA. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat Rev Microbiol* 2005; 3: 238-250.
- Ciornei CD, Sigurdardottir T, Schmidtchen A, Bodelsson M. Antimicrobial and chemoattractant activity, lipopolysaccharide neutralization, cytotoxicity, and inhibition by serum of analogs of human cathelicidin LL-37. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 2845-2850.
- Cornish J. Lactoferrin promotes bone growth. *Biomaterials* 2004; 17: 331-335.
- Dale BA, Fredericks LP. Antimicrobial peptides in the oral environment: expression and function in health and disease. *Curr Issues Mol Biol* 2005; 7: 119-133.
- Dale BA, Krisanaprakornkit S. Defensin antimicrobial peptides in the oral cavity. *J Oral Pathol Med* 2001; 30: 321-327.
- Dijkshoorn L, Brouwer CPJM, Bogaards SJP, Nemeč A, Broek PJ van den, Nibbering PH. The synthetic N-terminal peptide of human lactoferrin, hLF(1-11), is highly effective against experimental infection caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 4919-4921.
- Dodds MW, Johnson DA, Yeh CK. Health benefits of saliva: a review. *J Dent* 2005; 33: 223-233.
- Engelmayer J, Varadhachary A. Properties and application of recombinant human lactoferrin to enhance healing of diabetic wounds. *Wounds – A compendium of clinical research and practice*. *Wounds* 2003; 15: 294-301.
- Faber C, Stallmann HP, Lyaruu DM, et al. Comparable efficacies of the antimicrobial peptide human lactoferrin 1-11 and gentamicin in a chronic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis model. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 2438-2444.
- Farnaud S, Evans RW. Lactoferrin – a multifunctional protein with antimicrobial properties. *Mol Immunol* 2003; 40: 395-405.
- Gordon YJ, Romanowski EG, McDermott AM. A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs. *Curr Eye Res* 2005; 30: 505-515.
- Groeninck J, Walgreen-Weterings E, Nazmi K, et al. Salivary lactoferrin and low-Mr mucin MG2 in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *J Clin Periodontol* 1999a; 26: 269-275.
- Groeninck J, Walgreen-Weterings E, Hof W van 't, Veerman ECI, Nieuw Amerongen A van. Cationic amphipathic peptides, derived from bovine and human lactoferrins, with antimicrobial activity against oral pathogens. *FEMS Microbiol Lett* 1999b; 179: 217-222.
- Gusman H, Travis J, Helmerhorst EJ, Potempa J, Troxler RF, Oppenheim FG. Salivary histatin 5 is an inhibitor of both host and bacterial enzymes implicated in periodontal disease. *Infect Immun* 2001; 69: 1402-1408.
- Helmerhorst EJ, Hof W van 't, Veerman ECI, Simoons-Smit AM, Nieuw Amerongen A van. Synthetic histatin analogues with broad-spectrum antimicrobial activity. *Biochem J* 1997; 326: 39-45.
- Henskens YMC, Veerman ECI, Nieuw Amerongen A van. Cystatins in health and disease. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1996; 377: 71-86.
- Hertog AL den, Marle J van, Veen HA van, et al. Candidacidal effects of two antimicrobial peptides: histatin 5 causes small membrane defects, but LL-37 causes massive disruption of the cell membrane. *Biochem J* 2005; 388: 689-695.
- Hiemstra PS, Fernie-King BA, McMichael J, Lachmann PJ, Sallenave JM. Antimicrobial peptides: mediators of innate immunity as templates for the development of novel anti-infective and immune therapeutics. *Curr Pharm Des* 2004; 10: 2891-2905.
- Hof W van 't, Reijnders IM, Helmerhorst EJ, et al. Synergistic effects of low doses of histatin 5 and its analogues on amphotericin B antimycotic activity. *Antonie van Leeuwenhoek* 2000; 78: 163-169.

- > Hof W van 't, Veerman ECI, Helmerhorst EJ, Nieuw Amerongen A van. Antimicrobial peptides: properties and applicability. *Biol Chem* 2001; 382: 597-619.
- > Kraan MIA van der, Marle J van, Nazmi K, et al. Ultrastructural effects of antimicrobial peptides from bovine lactoferrin on the membranes of *Candida albicans* and *Escherichia coli*. *Peptides* 2005; 26: 1537-1542.
- > Lamont RJ, Demuth DR, Davis CA, Malamud D, Rosan B. Salivary agglutinin-mediated adherence of *Streptococcus mutans* to early plaque bacteria. *Infect Immun* 1991; 59: 3446-3450.
- > Legrand D, Ellass E, Pierce A, Mazurier J. Lactoferrin and host defence: an overview of its immuno-modulating and anti-inflammatory properties. *Biometals* 2004; 17: 225-229.
- > Ligtenberg AJM, Veerman ECI, Nieuw Amerongen A van. A role for Lewis A antigens on salivary agglutinin in binding to *Streptococcus mutans*. *Antonie van Leeuwenhoek* 2000; 77: 21-30.
- > Nieuw Amerongen A van, Bolscher JGM, Veerman ECI. Salivary mucins: protective functions in relation to their diversity. *Glycobiology* 1995; 5: 733-740.
- > Nieuw Amerongen A van, Bolscher JGM, Veerman ECI. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? *Caries Res* 2004a; 38: 247-253.
- > Nieuw Amerongen A van, Hof W van 't, Veerman ECI. Nieuwe antimicrobiële middelen. In: Steenberghe D Van, Baat C de, Braem MJA, et al (red.). *Het tandheelkundig jaar 2003*: Houten: Bohn Stafleu van Loghum, 2002.
- > Nieuw Amerongen A van, Veerman ECI, Vissink A. Systemische aandoeningen en speeksel. In: Nieuw Amerongen A van, Veerman ECI, Vissink A. *Speeksel, speekselklieren en mondgezondheid*. Houten: Bohn Stafleu van Loghum, 2004b.
- > Norrby K. Human apo-lactoferrin enhances angiogenesis mediated by vascular endothelial growth factor A *in vivo*. *J Vasc Res* 2004; 41: 293-304.
- > Schenkels LCPM, Walgreen-Weterings E, Oomen LCJM, Bolscher JGM, Veerman ECI, Nieuw Amerongen A van. *In vivo* binding of the salivary glycoprotein EP-GP (identical to GCDFP-15) to oral and non-oral bacteria detection and identification of EP-GP binding species. *Biol Chem* 1997; 378: 83-88.
- > Situ H, Bobek LA. *In vitro* assessment of antifungal therapeutic potential of salivary histatin-5, two variants of histatin-5, and salivary mucin (MUC7) domain 1. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1485-1493.
- > Sorensen OE, Borregaard N. Cathelicidins – Nature's attempt at combinatorial chemistry. *Comb Chem High Throughput Screen* 2005; 8: 273-280.
- > Spijkervet FKL, Vissink A, Stegenga B. Orofaciale ontstekingen. In: Stegenga B, Vissink A, Bont LGM de. *Mondziekten & kaakchirurgie*. Assen: Van Gorcum, 2000.
- > Steerenberg PA, Asperen I van, Nieuw Amerongen AV, Biewenga J, Mol D, Medema GJ. Salivary levels of immunoglobulin A in triathletes. *Eur J Oral Sci* 1997; 105: 305-309.
- > Steijn GJ van, Nieuw Amerongen A van, Veerman ECI, Kasaanmoentalib S, Overdijk B. Effect of periodontal treatment on the activity of chitinase in whole saliva of periodontitis patients. *J Periodontol Res* 2002; 37: 245-249.
- > Tanida T, Okamoto T, Okamoto A, et al. Decreased excretion of antimicrobial proteins and peptides in saliva of patients with oral candidiasis. *J Oral Pathol Med* 2003; 32: 586-594.
- > Teeuw W, Bosch JA, Veerman ECI, Nieuw Amerongen A van. Neuro-

endocrine regulation of salivary IgA synthesis and secretion: implications for oral health. *Biol Chem* 2004; 385: 1137-1146.

- > Van Dyke T, Paquette D, Grossi S, et al. Clinical and microbial evaluation of a histatin-containing mouthrinse in humans with experimental gingivitis: a phase-2 multi-center study. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 168-176.
- > Varadhachary A, Wolf JS, Petrak K, et al. Oral lactoferrin inhibits growth of established tumors and potentiates conventional chemotherapy. *Int J Cancer* 2004; 111: 398-403.
- > Veerman ECI, Bank CMC, Namavar F, Appelmelk BJ, Bolscher JGM, Nieuw Amerongen A van. Sulfated glycans on oral mucin as receptors for *Helicobacter pylori*. *Glycobiology* 1997; 7: 737-743.
- > Wei GX, Bobek LA. *In vitro* synergic antifungal effect of MUC7 12-mer with histatin-5 12-mer or micanozole. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53: 750-758.

Summary

Saliva: more than just a factor in oral health

Several salivary proteins are involved in the antimicrobial defence within the oral cavity, and are able to eliminate or inhibit a great number of microorganisms that enter the body via the oral cavity. Thus changes in the composition of saliva may not only affect people's oral health, but also have consequences for their general health. Based on salivary proteins, antimicrobial peptides have been synthesized. Potentially, these could be used as a new class of antibiotics. The antimicrobial peptides are hardly cytotoxic to human cells and do not evoke any or only very little resistance in microorganisms.

Bron

Uit de 'afdeling Tandheelkundige Basiswetenschappen, sectie Orale Biochemie van het Academisch Centrum Tandheelkunde Amsterdam en de 'afdeling Kaakchirurgie van het Universitair Medisch Centrum Groningen

Datum van acceptatie: 28 november 2005

Adres: prof. dr. A. van Nieuw Amerongen, ACTA, Van der Boechorststraat 7, 1081 BT Amsterdam

a.vannieuwamerongen@vumc.nl