

Speeksel en wondgenezing

De orale mucosa staat voortdurend bloot aan mechanische krachten waardoor beschadigingen kunnen ontstaan. Speeksel draagt op verschillende wijzen bij aan het herstel van deze verwondingen. Zo zorgt speeksel voor een vochtig milieu waarin ontstekingscellen beter kunnen functioneren. De laatste jaren is gebleken dat speeksel ook een groot aantal eiwitten bevat die een rol spelen bij de wondgenezing. Speeksel bevat groeifactoren, in het bijzonder Epidermal Growth Factor, die de proliferatie van epitheelcellen bevorderen. Trefoil factor 3 en histatine bevorderen eveneens het proces van wondsluiting. Het belang van Secretory Leukocyte Protease Inhibitor blijkt uit het feit dat bij afwezigheid van dit speeksel eiwit de orale wondgenezing sterk is vertraagd. De kennis over deze speeksel eiwitten opent de weg naar ontwikkeling van nieuwe wondgenezende geneesmiddelen.

[Veerman ECI, Oudhoff MJ, Brand HS. Speeksel en wondgenezing](#)

[Ned Tijdschr Tandheelkd 2011; 118: 253-256](#)

[doi: 10.5177/ntvt.2011.05.10268](#)

Inleiding

Dagelijkse activiteiten zoals het kauwen van voedsel, bijten en spreken stellen de orale mucosa bloot aan mechanische druk-, trek- en wrijfkraften. Het stevige epitheel van de orale mucosa biedt hiertegen bescherming. Daarnaast spelen de slijmstoffen in speeksel, de mucinen, een zeer belangrijke rol. Mucinen zijn de belangrijkste bestanddelen van de hydrofiele slijmlagen die de mondslijmvliezen bedekken. Deze slijmlagen functioneren als een smeerlaag die mucosa en gebitselementen beschermt tegen wrijvingskrachten. Bovendien beschermen ze de onderliggende weefsels tegen uitdroging, tegen kolonisatie en invasie van bacteriën en tegen inwerking van chemische bestanddelen. Deze beschermende factoren kunnen echter niet voorkomen dat voortdurend kleine beschadigingen van de orale mucosa ontstaan.

De functie van speeksel bij de genezing van wonden in de mond is tot heden tamelijk onderbelicht gebleven, ondanks dat de wondhelende eigenschappen van speeksel al van oudsher bekend zijn. Likken van wonden is een instinctieve reactie van mens en dier en in de klassieke oudheid werd speeksel van dieren al gebruikt om wonden te genezen. Het volksgeloof wil dat in het bijzonder speeksel van honden een geneeskrachtige werking heeft. Recent wetenschappelijk onderzoek bevestigt de wondgenezende werking van speeksel.

In deze bijdrage wordt een overzicht gegeven van de verschillende speekselfactoren die een rol spelen bij de genezing van orale mucosawonden.

Wondgenezing in de mond

Bij de genezing van wonden in de huid worden verschillende,

elkaar deels overlappende stadia doorlopen. Direct na de verwonding trekken de bloedvaten samen en treedt bloedstelping op. Beide processen zijn erop gericht om bloedverlies zoveel mogelijk te beperken. Hierna volgt de inflammatoire fase waarin bacteriën en afgestorven weefselresten worden opgeruimd door macrofagen en andere ontstekingscellen. Tevens worden factoren uitgescheiden die de celdeling en celmigratie bevorderen. De daaropvolgende proliferatieve fase wordt gekenmerkt door nieuwvorming van bloedvaten (angiogenese), depositie van een collageenmatrix, vorming van granulatieweefsel, bedekken van de wond door epitheelcellen en wondcontractie. In de laatste fase worden de collageenbundels geremodelleerd en ondergaan cellen apoptose.

Tijdens de genezing van orale mucosawonden worden dezelfde stadia doorlopen. Desondanks is er een duidelijk verschil tussen wondgenezing van de huid en de orale mucosa. Wonden in de mond genezen namelijk sneller en met minder littekenvorming dan wonden in de huid. Dit is niet alleen de klinische ervaring van tandartsen die zien dat extractiewonden meestal snel en zonder complicaties genezen. Ook in een onderzoek bij varkens, waarvan de huid sterk lijkt op de menselijke huid, is aangetoond dat wondgenezing in de bek sneller verloopt dan in de huid. Bij de varkens werden wonden aangebracht in het palatum en in de huid. Na 14 dagen waren de palatumwonden klinisch gesloten en na 28 dagen was de oorspronkelijke plaats van de wond nauwelijks meer te onderscheiden van het omliggende weefsel. De huidwonden waren echter na 14 dagen nog bedekt met een korst en na 49 dagen waren de littekens nog steeds duidelijk zichtbaar (Wong et al, 2009). In een ander onderzoek bleek de genezing van palatumwonden bij mensen volgens hetzelfde patroon te verlopen als bij varkens, maar de wondgenezing van de orale mucosa verliep langzamer bij ouderen, vooral bij vrouwen (Engeland et al, 2006). Diverse factoren spelen een rol bij de snelle genezing van orale mucosawonden. De snelheid waarmee orale cellen worden ververst is hoger dan in de huid, waardoor het 'opvullen' van een wond door weefsel sneller kan gebeuren. Ook is de vascularisatie van de orale mucosa beter dan van de huid. De aanvoer van ontstekingscellen, groeifactoren en voedingsstoffen verloopt daarom sneller, evenals de afvoer van gefagocyteerde bacteriën en restanten van afgestorven weefselcellen.

Het vochtige milieu in de mond bevordert eveneens het proces van wondgenezing. Het mechanisme hierachter is nog niet volledig opgehelderd, maar een aantal zaken speelt hierbij een rol. Zo voorkomt de vochtige atmosfeer dehydratie van cellen en de daarmee gepaard gaande celdood. Bij de wondgenezing is een groot aantal cellen betrokken, onder meer neutrofielen, macrofagen, epitheelcellen en fibroblasten.

De overleving van deze cellen wordt eveneens bevorderd door het vochtige milieu in de mond. Bovendien verloopt re-epithelisatie in een vochtig milieu beter. Epitheelcellen migreren sneller over een vochtig wondoppervlak dan onder een droge korst. Ook is de aanvoer van voedingsstoffen en zuurstof in een vochtig milieu beter.

De aanwezigheid van speeksel bevordert de genezing van de orale mucosa. Het speeksel zorgt voor de vochtige omstandigheden in de mond, maar het bevat tevens een grote verscheidenheid aan eiwitten en peptiden die direct of indirect de wondgenezing bevorderen.

Verschillende rollen van speeksel

Niet alle condities in de mond bevorderen de wondgenezing. Zo vormen de omstandigheden in de mond een ideale voedingsbodem voor het ontstaan van een zeer complexe microbiota, die meer dan 1.000 verschillende soorten bacteriën, schimmels en virussen omvat (Zaura et al, 2009). Het aantal bacteriën in de mond wordt geschat op 10^8 - 10^9 .

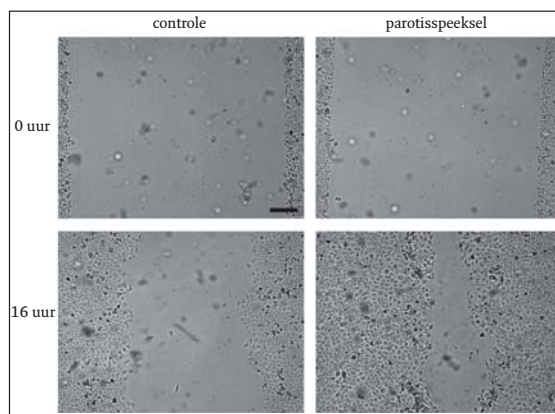
Wonden in de orale mucosa zouden in principe gemakkelijk kunnen worden geïnfecteerd. Bacteriën, die doorgedrongen zijn door het epitheel, wekken een ontstekingsreactie op. Als reactie op bacteriën en bacteriële toxinen produceert het lichaam ontstekingsfactoren en proteolytische enzymen die de wondgenezing sterk kunnen vertragen (Edwards en Harding, 2004).

Speeksel bevat diverse afweersystemen tegen bacteriën. In de eerste plaats bevat speeksel bacterie-agglutinerende eiwitten zoals secretie-IgA, MUC7 en speekselagglutinine. Deze voorkomen de hechting van bacteriën aan orale weefsels. Een andere verdedigingslinie tegen micro-organismen wordt gevormd door bacteriedodende systemen als lysozym en antimicrobiële peptiden. Daarnaast binden sommige speeksel-eiwitten bacteriële toxinen, waardoor de pro-inflammatoire eigenschappen van deze toxinen worden gneutraliseerd. Speeksel bevat bovendien diverse eiwitten en peptiden die direct de activiteit van orale epitheelcellen en fibroblasten stimuleren.

Groefactoren

Groefactoren zijn voor het eerst in speeksel en speekselklieren van knaagdieren ontdekt en gekarakteriseerd (Cohen, 1962; Cohen 2004). Later is aangetoond dat ook menselijk speeksel soortgelijke groefactoren bevat. Deze groefactoren zijn signaalstoffen die een breed scala aan intracellulaire processen op gang brengen, waaronder celdeling en celmigratie.

In menselijk speeksel is in de afgelopen decennia een groot aantal verschillende groefactoren aangetoond, waarvan enkele in zodanige concentraties voorkomen dat ze *in vitro* biologisch actief zijn en dus een fysiologische rol zouden kunnen spelen bij de orale wondgenezing. Deze groefactoren betreffen onder meer de Epidermal Growth Factor, de Transforming Growth Factor en de Vascular Endothelial Growth Factor (Royce en Baum, 1991; Mogi et al, 1995; Taichman et al, 1998). Daarnaast bevat speeksel, waarschijnlijk als gevolg van serumlekkage, sporenhoeveelheden van andere groefactoren en van insuline. De eerst ontdekte



Afb. 1. Epitheelcellen werden gekweekt in een kweeschaal totdat de bodem volledig was bedekt. Een gestandaardiseerde 'wond' werd gecreëerd door over een bepaald oppervlak cellen weg te schrapen. Vervolgens werd verder gekweekt in een medium waaraan humaan parotisspeeksel was toegevoegd (parotis) en een (controle)medium zonder parotisspeeksel.

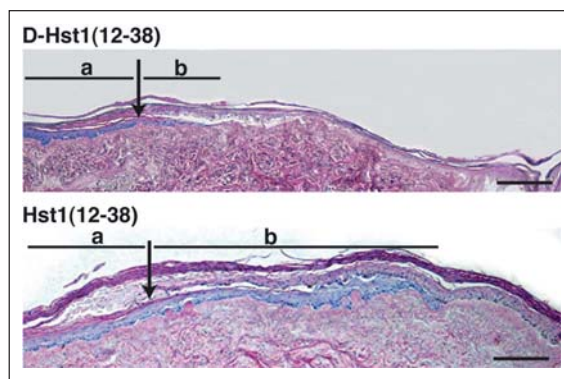
groefactor, Epidermal Growth Factor, is het meest uitgebreid onderzocht. Het is een betrekkelijk klein eiwit van 53 aminozuren dat bij de mens vooral door de glandula parotis wordt uitgescheiden. Het bindt, evenals de andere groefactoren, aan een specifieke receptor op het membraan van de doelcel waardoor een cascade van processen in gang wordt gezet. Dit mondt uit in migratie, proliferatie en differentiatie van cellen. Migratie en proliferatie van epitheelcellen zijn activiteiten die in de eerste stadia van de wondgenezing optreden. Bij knaagdieren heeft Epidermal Growth Factor uit speeksel niet alleen lokale effecten, maar ook effecten op genezing van wonden in de huid en de maagwand (Hutson et al, 1979; Olsen et al, 1984; Bodner et al, 1993).

Toen in begin jaren '80 van de vorige eeuw werd aangetoond dat menselijk speeksel ook Epidermal Growth Factor bevat, lag het voor de hand dat deze groefactor evenals bij knaagdieren een rol speelt bij de bescherming van mondepitheel tegen fysieke en chemische traumata. Hierbij dient echter te worden opgemerkt dat de concentratie van deze groefactor in menselijk speeksel aanzienlijk lager is dan in speeksel van knaagdieren (tab. 1). Bovendien is een niet-verwaarloosbaar deel aanwezig als inactieve precursor. Desondanks is aangetoond dat Epidermal Growth Factor, zelfs in de lage concentraties waarin het in menselijk speeksel voorkomt, *in vitro* actief is, hetgeen wijst op een functie in de wondgenezing.

De Transforming Growth Factor wordt eveneens in menselijk speeksel aangetroffen. De chemische structuur hiervan vertoont grote gelijkheid met die van de Epidermal Growth Factor. Beide groefactoren binden aan dezelfde receptor en vertonen vrijwel hetzelfde scala aan biologische activiteiten.

De betekenis van de Nerve Growth Factor is voor de mondgezondheid twijfelachtig. Bij muizen konden geen wondhelende effecten ervan worden aangetoond (Noguchi et al, 1991). Er zijn sterke aanwijzingen dat deze groefactor een rol speelt bij de regeneratie en de ontwikkeling van zenuwbanen (Richardson en Ebendal, 1982).

Ten slotte bevat speeksel relatief grote hoeveelheden



Afb. 2. De epidermis werd behandeld met een glazen staaf die was afgekoeld tot $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Deze 'vrieswond' resulteerde in het afsterven van alle cellen in het behandelde gebied. Na toevoeging van een kweekmedium met histatine (onder) of zonder (boven) werd verder gekweekt. De pijl markeert de wondrand. De lengte waarover na 6 dagen wondsluiting is opgetreden is weergegeven door b.

Vascular Endothelial Growth Factor. Deze groeifactor is afkomstig uit de glandula submandibularis. Het is een multifunctioneel eiwit dat onder andere de vorming van nieuwe bloedvaten stimuleert. In speeksel van parodontitispatiënten is de concentratie van deze groeifactor verhoogd, hetgeen duidt op een rol in de genezing van parodontale weefsels (Booth et al, 1998).

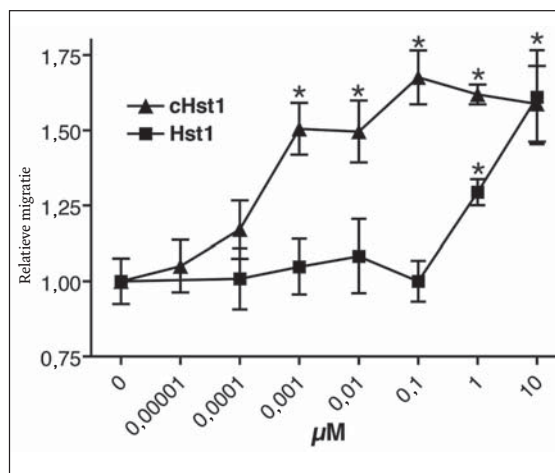
Secretory Leukocyte Protease Inhibitor

Naast groeifactoren bevat speeksel een aantal eiwitten die op geheel andere manieren de wondgenezing bevorderen, namelijk door ontstekingsreacties te remmen. Een voorbeeld van deze groep is de Secretory Leukocyte Protease Inhibitor. Dit is een fysiologische enzymremmer die voor het eerst is geïsoleerd en gekarakteriseerd uit parotisspeeksel van de mens. Het komt in vrijwel alle mucosale secreten voor, onder andere in longvloeistof, speeksel, neusslijm en seminaal plasma. Het is een multifunctioneel eiwit dat een groot aantal eiwitsplitsende enzymen remt, waaronder elastase, trypsine en cathepsine. Daarnaast heeft het een anti-inflammatoire werking, het remt ontstekingen en heeft antimicrobiële activiteit.

De rol van Secretory Leukocyte Protease Inhibitor in de wondgenezing is naar voren gekomen uit dierexperimenteel onderzoek. Bij muizen waarbij het gen voor deze enzymremmer ontbreekt, is de orale wondgenezing sterk vertraagd en komen frequentere orale ontstekingen voor. Bij dieren met deze deficiënte was de afbraak van bindweefsel verhoogd door een toename in activiteit van elastase, een enzym dat bindweefseleiwitten afbreekt. Bij muizen met suppletie met Secretory Leukocyte Protease Inhibitor was de situatie genormaliseerd, hetgeen erop duidt dat deze enzymremmer van cruciaal belang is voor een goed verloop van de wondgenezing (Ashcroft et al, 2000).

Trefoil peptiden

Een speeksel-eiwit dat ook van belang is voor orale wondgenezing is Trefoil Factor 3, een lid van de familie van de Tre-



Afb. 3. Vergelijking van de wondhelende effecten van natuurlijk histatine en gesynthetiseerd cyclisch histatine in concentraties variërend van $0,01\text{ }\mu\text{M}$ tot $10\text{ }\mu\text{M}$.

foil-peptiden. Trefoil-peptiden treft men aan in vrijwel alle mucosale slijmlagen in het lichaam, onder meer in het maag-darmkanaal, de galblaas, de pancreas, de longen en de cervix. Ze verbeteren de mechanische en chemische weerstand van deze slijmlagen, en zijn tevens betrokken bij de homeostase en regeneratie van de mucosa. Door hun compacte vorm zijn Trefoil-peptiden opmerkelijk resistent tegen proteolytische afbraak zodat ze - ondanks de overvloedige aanwezigheid van eiwitsplitsende enzymen in het maag-darmkanaal - intact blijven.

In speeksel komt alleen de Trefoil Factor 3 voor. Deze wordt gesecreteerd door de glandula submandibularis en de glandula sublingualis. Het eiwit stimuleert de migratie van orale keratinocyten en versnelde daardoor de wondsluiting in een in-vitromodelsysteem, maar had geen stimulerend effect op de celdeling (Storesund et al, 2008).

Nieuwe rol voor histatinen

Recent zijn nieuwe speekselcomponenten aan de lijst van wondgenezende peptiden toegevoegd, de zogeheten histatinen. Deze familie van peptiden is meer dan 30 jaar geleden in het speeksel van de mens ontdekt. Sindsdien is gebleken dat zij ook in speeksel van andere primaten voorkomen, maar tot dusver konden zij niet in andere weefsels worden aangetoond. In de loop der jaren is een groot aantal functies van histatinen aangetoond. Zo spelen zij een rol bij de bescherming van glazuur, het remmen van eiwitsplitsende enzymen en het doden van schimmels en bacteriën.

Recent is in een onderzoek aangetoond dat enkele leden van de histatinenfamilie de migratie van epitheelcellen en fibroblasten stimuleren en zo de wondsluiting bevorderen (Oudhoff et al, 2008). Eerst werd aangetoond dat toevoeging van humaan parotisspeeksel aan een eenvoudig in-vitromodel de wondsluiting kon bevorderen (afb. 1). Vervolgens werden de afzonderlijke eiwitten uit parotisspeeksel geïsoleerd en getest op hun wondsluitende eigenschappen. Hieruit kwam 1 enkele actieve component naar voren: histatine. In een complexer in-vitromodel voor het testen van wondgene-

zing bleek histatine eveneens wondgenezing te bevorderen (afb. 2) (Oudhoff et al, 2009).

De ontdekking van de wondgenezende effecten van histatinen opent de weg naar de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen. Histatinen zijn relatief eenvoudige chemische verbindingen die gemakkelijk en goedkoop in grote hoeveelheden kunnen worden geproduceerd. Daardoor zijn ze commercieel waarschijnlijk interessanter dan de recombinantgeproduceerde Epidermal Growth Factor en Transforming Growth Factor, die momenteel mondjesmaat en duur op de markt komen. Een ander voordeel van histatinen is dat eenvoudig chemische varianten kunnen worden gemaakt. Zo is al gevonden dat een cyclische variant in een 1.000 keer lagere concentratie even actief is als het natuurlijke lineaire peptide (afb. 3) (Oudhoff et al, 2009).

Histatine-analogen kunnen op verschillende manieren bijdragen aan de ontwikkeling van nieuwe producten om de wondgenezing te bevorderen. Zo kunnen zij worden toegevoegd aan wondafdekkende materialen zoals pleisters en gaasverband. Als ingrediënt van een crème kunnen histatinen wellicht de behandeling van decubitus verbeteren. Een histatinebevattende gel zou kunnen bijdragen aan de behandeling van mucositis. Het valt te hopen dat dergelijk klinisch onderzoek korte termijn zal plaatsvinden.

Literatuur

- * Ashcroft GS, Lei K, Jin W, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor mediates non-redundant functions necessary for normal wound healing. *Nat Med* 2000; 6: 1147-1153.
- * Bodner L, Dayan D, Pinto Y, Hammel I. Characteristics of palatal wound healing in desalivated rats. *Arch Oral Biol* 1993; 38: 17-21.
- * Booth V, Young S, Cruchley A, Taichman NS, Paleolog E. Vascular endothelial growth factor in human periodontal disease. *J Periodont Res* 1998; 33: 491-499.
- * Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the newborn animal. *J Biol Chem* 1962; 237: 1555-1562.
- * Cohen S. Origins of growth factors: NGF and EGF. *Annals N Y Acad Sci* 2004; 1038: 98-102.
- * Edwards, R, Harding KG. Bacteria and wound healing. *Curr Opin Infect Dis* 2004; 17: 91-96.
- * Engeland CG, Bosch JA, Cacioppo JT, Marucha PT. Mucosal wound healing - The roles of age and sex. *Arch Surg* 2006; 141: 1193-1197.
- * Hutson JM, Nial M, Evans D, Fowler R. Effect of salivary glands on wound contraction in mice. *Nature* 1979; 279: 793-795.
- * Mogi M, Inagaki H, Kojima K, Minami M, Harada MJ. Transforming growth-factor-alpha in human submandibular-gland and saliva. *J Immunoassay* 1995; 16: 379-394.
- * Noguchi S, Ohba Y, Oka T. Effect of salivary epidermal growth factor on wound healing of tongue in mice. *Am J Physiol* 1991; 260: E620-E625.
- * Olsen PS, Poulsen SS, Kirkegaard P, Nexø E. Role of submandibular saliva and epidermal growth factor in gastric cytoprotection. *Gastroenterology* 1984; 87: 103-108.
- * Oudhoff MJ, Bolscher JG, Nazmi K, et al. Histatins are the main wound-closure stimulating factors in human saliva as identified in a cell culture assay. *FASEB J* 2008; 22: 3805-3812.
- * Oudhoff MJ, Kroeze KM, Nazmi K, et al. Structure-activity analysis

Medisch

of histatin, a potent wound healing peptide from human saliva: cyclization potentiates molar activity 1,000-fold. *FASEB J* 2009; 23: 3928-3935.

- * Oudhoff MJ. Discovery of the wound-healing capacity of salivary histatins. Amsterdam: Vrije Universiteit, 2010. Academisch proefschrift.
- * Richardson PM, Ebendal T. Nerve growth activity in rat peripheral nerve. *Brain Res* 1982; 246: 57-64.
- * Royce LS, Baum BJ. Physiological levels of salivary epidermal growth-factor stimulate migration of an oral epithelial cell line. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1092: 401-403.
- * Storesund T, Hayashi K, Kolltweit KM, Bryne M, Schenck K. Salivary trefoil factor 3 enhances migration of oral keratinocytes. *Eur J Oral Sci* 2008; 116: 135-140.
- * Taichman NS, Cruchley AT, Fletcher LM, et al. Vascular endothelial growth factor in normal human salivary glands and saliva. A possible role in the maintenance of mucosal homeostasis. *Lab Invest* 1998; 78: 869-875.
- * Wong JW, Gallant-Behm C, Wiebe C, et al. Wound healing in oral mucosa results in reduced scar formation as compared with skin: Evidence from the red Duroc pig model and humans. *Wound Repair Regen* 2009; 17: 717-729.
- * Zaura E, Keijser BFF, Huse SM, Crielaard W. Defining the healthy "core microbiome" of oral microbial communities. *BMC Microbiology* 2009; 9: 259-270.

Summary

Saliva and wound healing

The oral mucosa is frequently exposed to mechanical forces, which may result in tissue damage. Saliva contributes to the repair of the oral mucosa in several ways. In the first place, it creates a humid environment to improve the function of inflammatory cells. During the last few years, it has been shown that saliva also contains a large number of proteins with a role in wound healing. Saliva contains growth factors, especially Epidermal Growth Factor, which promotes the proliferation of epithelial cells. Trefoil factor 3 and histatin promote the process of wound closure. The importance of Secretory Leucocyte Protease Inhibitor is demonstrated by the fact that in the absence of this salivary protein, oral wound healing is considerably delayed. Understanding these salivary proteins opens the way for the development of new wound healing medications.

Bron

E.C.I. Veerman, M.J. Oudhoff, H.S. Brand
 Uit de sectie Orale Biochemie van het Academisch Centrum Tandheelkunde Amsterdam
 Datum van acceptatie: 8 februari 2011
 Adres: prof. dr. E.C.I. Veerman, sectie Orale Biochemie Academisch Centrum Tandheelkunde Amsterdam, Gustav Mahlerlaan 3004, 1081 LA Amsterdam
 eci.veerman@acta.nl