Metabool syndroom is een wereldwijd groeiend gezondheidsprobleem dat wordt gekenmerkt door een combinatie van metabole risico factoren, waaronder abdominale obesitas, insuline resistentie,dyslipidemie en hypertensie (Pigeot & Ahrens, 2025). In een meta-analyse op basis van gegevens van meer dan 28 miljoen individuen rapporteerden Noubiap et al. (2022) een prevalentie van 12.5% tot 31.4. Ook bleek dat metabool syndroom zich niet meer beperkt tot volwassenen, maar ook voorkomt in kinderen en adolescenten.    
De aanwezigheid van metabool syndroom verdubbelt het risico op het ontwikkelen van cardiovasculaire aandoeningen, waaronder myocardinfarct, hartfalen, beroerte en coronaire hartziekten. Tevens verhoogt het de kans op mortaliteit door cardiovasculaire oorzaken (de Simone et al., 2007). Daarnaast wordt het syndroom sterk geassocieerdmet de ontwikkeling van diabetes mellitus type 2, wat op zijn beurt het risico op complicaties zoals slaapapneu, pulmonale hypertensie en osteoartritis verder vergroot (de Simone et al., 2007).

De huidige diagnostiek van metabool syndroom is grotendeels afhankelijk van invasieve bloedonderzoeken en klinische parameters zoals glucose, insuline en lipiden waarden. Hoewel deze methoden klinisch betrouwbaar zijn, brengen ze beperkingen met zich mee: zo zijn ze kostbaar, tijdsintensief, en is getraind personeel vereist.

Vanuit het Academisch Centrum Tandheelkunde Amsterdam (ACTA) wordt onderzoek verricht naar orale gezondheid, infecties en regeneratieve processen met als doel de algehele mondgezondheid te optimaliseren.In samenwerking met de Hogeschool Utrecht wordt onderzocht hoe speekselenzymen een rol spelen bij zowel mondgezondheid als systemische aandoeningen. Deze samenwerking sluit aan bij de bredere zoektocht naar betrouwbare, niet-invasieve biomarkers die inzicht kunnen geven in metabole en fysiologische processen.

Een systematic review van Habobe et al. (2025) heeft het over de potentie van speeksel als een non-invasieve methode om metabool syndroom vroegtijdig te diagnostiseren. Speeksel is eenvoudiger en pijnloos te verzamelen, vereist geen gespecialiseerd personeel en is daardoor kosteneffectiever en patiëntvriendelijker.

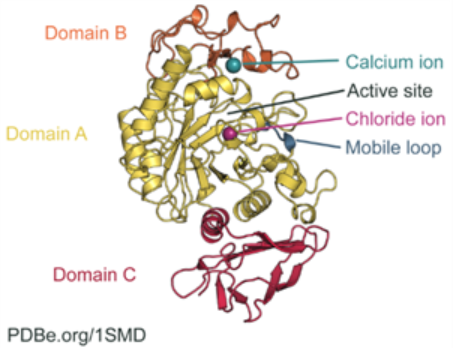
Speekselenzymen spelen een essentiële rol bij het behouden van de mondgezondheid en in de eerste fases van de spijsvertering. Deze enzymen bieden bescherming aan de tandoppervlakte en slijmvlies om tegen elkaar te hechten, neutraliseren van zuren, antimicrobiële activiteit en herstellen van weefsel.    
Speeksel wordt geproduceerd in de speekselklieren en worden gereguleerd door zowel het sympathische als het parasympathische zenuwstelsel, die stimuleren de speekselklier secretie. De speekselklieren bestaat uit acinaire cellen, die onderverdeeld worden in sereuze en mucineuze cellen. De sereuze acinaire cellen produceren glycoproteïnen en alfa-amylase enzym. De mucineuze acinaire cellen produceren slijmachtige mucine eiwitten met sterke suikerresidu die de mond beschermt en bevochtigd. Enzymen die in speeksel voorkomen zijn lipase, amylase, lysozym en protease. Lipase zorgen voor het afbreken van vetten, amylase voor het afbreken van koolhydraten, protease voor het afbreken van eiwitten en lysozym bevat polynucletidasen voor het afbreken van DNA en RNA (Alhajj & Babos, 2023).

Speeksel bevat een breed scala een potentiële biomarkers, waaronder ionen, eiwiten, hormonen, vetzuren en vitaminen. Deze kunnen mogelijk de metabole status van een individu weerspiegelen en als diagnostisch materiaal dienen (Habobe et al., 2025).   
Speeksel wordt al langer als diagnostisch materiaal gebruikt, bijvoorbeeld bij het meten van het hormoon cortisol voor psychologische stress (Ali & Nater, 2020), geneesmiddelen detectie, het opsporen van bacteriën of virussen en bij humaan immunodeficiëntie virus (HIV)-screening. Daarnaast kan speekselproductie beïnvloed worden door verschillende ziektes, medicaties of behandelingen. Dit kan gevolgen hebben voor de enzymactiviteit, minder bescherming voor de mondholte en het verstoren van bepaalde functies van de spijsvertering wat mate van activiteit ook als marker ka dienen. Zonder een natuurlijke antimicrobiële afweer vergroot de kans op bacteriële en schimmelinfecties (Alhajj & Babos, 2023).

Eén van de meest onderzochte enzymatische biomarkers in speeksel is alpha-amylase. Dit enzym behoren tot de familie van glycosidehydrolasen, die de alfa-1,4-glycosidische binding in zetmeel hydrolyseren. Hierdoor worden koolhydraten moleculen afgebroken in kleinere suikermoleculen.     
Er bestaat drie klassen amylase: alfa-, beta-, en gamma-amylase.

* Alfa-amylase komen voor bij mensen, dieren, planten en micro-organismen.
* Bèta-amylase komen voor in planten en micro-organismen.
* Gamma-amylase komen voor in dieren en planten.

Bij de mens komt alfa-amylase alleen voor en speelt een essentiële rol bij de spijsvertering, omdat in de mond begint het afbreken van zetmeel en bij de kolonisatie van bacteriën in de mond door de vorming van tandplak.     
Alfa-amylase 3D structuur bestaat uit drie domein: A, B en C domein. Het enzym bevat ook een calciumion (Ca2+) en een chloride ion (Cl-).    
Het calciumion bevindt zich in domein B en is gebonden aan asparagine (Asn), arginine (Arg), histidine (His) aminozuren samen met 3 watermoleculen. Het chloride ion bevindt zich in domein A en is gebonden aan Asn en Arg aminozuren samen met één watermolecuul. Vervolgens in domein A zit ook een mobiele loop die is een glycinerijk gebied, die zorgt ervoor dat het substraat goed kan binden aan het actieve side van het enzym. Het actieve side bevindt zich ook in domein A en is essentieel voor de enzymactiviteit (zie figuur 1) (Akinfemiwa et al., 2023).



**Figuur 1:** Weergave van 3D structuur van alfa-amylase in speeksel die bestaat uit domein A (geel), domein B (oranje), domein C (rood), calcium-ion (groen), chloride-ion (roze), mobiele loop (blauw) en actieve site (zwart). *[https://www.ebi.ac.uk/pdbe/articles/wonders-salivary-amylase](https://www.ebi.ac.uk/pdbe/articles/wonders-salivary-amylase" \t "_blank)*

Alpha-amylase is één van de meest overvloedige eiwitten in speeksel en vormt ongeveer 10-20% van de totale speekseleiwitten (Arhakis et al., 2013). De concentratie en activiteit van alpha-amylase in het speeksel blijkt sterk te correleren met metabole processen, zoals glucosemetabolisme en ontstekings. Deze spelen ook een rol in het metabool syndroom (Erta et al., 2025).

In hoeverre de concentratie en activiteit van alpha amylase in verband staat met metabool syndroom is echter nog geen hard bewijs voor. In een studie van Al-Akl et al. (2020) werd aangetoond dat mannen met een lage plasmaconcentratie van alpha-amylase significant hogere markers van adipositat vertoonden, zoals body mass index (BMI), vetmassa, visceraal vet en middelomtrek vergeleken met mannen met een hoger alpha-amylase concentratie. Deze bevindingen ondersteunt het idee dat een verminderde alpha amylase activiteit mogelijk samenhangt met metabole dysfunctie. In een andere studie van Viljakainen et al. (2015) is een ander verband te zien, mogelijk afhankelijk van populatieverschillen (leeftijd, etniciteit, obesita-geschiedenis).

Erta et al. (2025) benadrukt het belang voor de reproduceerdbaarheid, het standaardiseren en het valideren van methoden om speeksel alpha amylase te gebruiken als metabolische biomarker. Variatie in studies kunnen worden verklaard door de verschillen in verzamelmethode, opslagconditie en verwerking van het speeksel evenals biologische factoren waaronder dieet en stress.

Daarnaast is de samenstelling van speeksel complex. Het bevat naast alpha-amlase ook vershcillenden enzymen, waaronder proteasen. Deze proteasen, zoals matrix metalloproteinasen (MMP) kunnen mogelijk ook op zichzelf een indicator zijn voor metabole dysfunctie en als biomarker dienen (Habobe et al., 2025). Tegelijkertijd vormen proteasen een technische uitdaging bij het gebruik van alpha-amylase als biomarker, omdat proteasen dit enzym kunnen afbreken of inactiveren. Hierdoor kan de gemeten alpha-amylaseactiviteit lager uitvallen dan de werkelijke waarde, wat de betrouwbaarheid van de metingen vermindert. Om die reden is het belangrijk te begrijpen in welke mate proteasen invloed hebben op de stabiliteit en activiteit van alpha-amylase in speeksel.

Hoewel de aanwezigheid en functies van alpha-amylase en proteasen in speeksel zijn beschreven, is er nog weinig bekend over de interactie tussen deze enzymen. Het is onduidelijk in welke mate endogene proteasen bijdragen aan de afbraak of inactivatie van alpha-amylase in speekselmonsters en hoe dit de betrouwbaarheid van de speekselmetingen beïnvloedt.   
Daarnaast ontbreken er gestandaardiseerde methoden om deze interactie kwantitatief te beoordelen. De meeste bestaande studies richten zich op de totale enzymactiviteit, maar niet op de dynamiek van afbraak of stabiliteit van alpha-amytlase onder invloed van proteolytische activiteit.

Om dit beter te begrijpen, wordt in dit onderzoek gekeken naar de proteaseactiviteit in speeksel en de invoed hiervan op de alpha-amylase activiteit. Dit gebeurt met behulp van een fluorescence resonance energy transfer (FRET)-assay en 2-chloro-4-nitrophenyl-α-D-maltotrioside (CNPG3)-assay. De resultaten van dit onderzoek kunnen bijdragen aan het ontwikkelen van betrouwbaardere analyses voor speeksel biomarkers en beter begrip van hoe enzymatische afbraak de diagnostische waarde van deze biomarkers beïnvloedt in bijvoorbeeld, maar niet beperkt tot, metabool syndroom.

In dit onderzoek zal ongestimuleerd passief speeksel verzameld worden en bereid worden voor de totale ewitconcentratie bepaling met behulp van de bicinchoninezuur (BCA)-assay. Hierna kan de proteaseactiviteit in de monsters bepaald worden met de FRET-assay: een methode die algehele proteolytische afbraak in speeksel kwantificeert. Tegelijkertijd wordt de alpha-amylase activiteit bepaald met de CNPG3-assay, waar met behulp van een substraat de enzymactiviteit gemeten kan worden.    
Door deze assays te combineren kan zowel de proteolytische activiteit en alpha-amyalse activiteit in speekselmonsters worden bepaald, waardoor inzicht verkregen wordt over de mogelijke invloed van proteasen op alpha-amylase in het speeksel.

Om de resultaten van deze assay-lijn verder te onderbouwen, zal aanvullend een SDS-Page uitgevoerd worden, gevolgd door een Coomassie-kleuring. Hiermee kan verandering in eiwitprofiel in de speekselmonsters gevisualiseerd worden en kan worden beoordeeld of alpha-amylase afgebroken wordt onder invloed van proteasen.

Literatuurlijst

Akinfemiwa, O., Zubair, M., & Muniraj, T. (2023, November 12). Amylase. StatPearls - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557738/>

Al-Akl, N., Thompson, R. I., & Arredouani, A. (2020). High plasma salivary α-amylase, but not high AMY1 copy number, associated with low obesity rate in Qatari adults: cross-sectional study. Scientific reports, 10(1), 17918. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74864-6>

Alhajj, M., & Babos, M. (2023, July 24). Physiology, salivation. StatPearls - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542251/>

Ali, N., & Nater, U. M. (2020). Salivary Alpha-Amylase as a Biomarker of Stress in Behavioral Medicine. International journal of behavioral medicine, 27(3), 337–342. <https://doi.org/10.1007/s12529-019-09843-x>

Arhakis, A., Karagiannis, V., & Kalfas, S. (2013). Salivary alpha-amylase activity and salivary flow rate in young adults. The open dentistry journal, 7, 7–15. <https://doi.org/10.2174/1874210601307010007>

De Simone, G., Devereux, R. B., Chinali, M., Best, L. G., Lee, E. T., Galloway, J. M., Resnick, H. E., & Strong Heart Study Investigators (2007). Prognostic impact of metabolic syndrome by different definitions in a population with high prevalence of obesity and diabetes: the Strong Heart Study. Diabetes care, 30(7), 1851–1856. <https://doi.org/10.2337/dc06-2152>

Erta G, Gersone G, Jurka A, Tretjakovs P. Salivary α-Amylase as a Metabolic Biomarker: Analytical Tools, Challenges, and Clinical Perspectives. Int J Mol Sci. 2025 Jul 30;26(15):7365. doi: 10.3390/ijms26157365. PMID: 40806495; PMCID: PMC12347534.

Habobe, H. A., Pieters, R. H. H., & Bikker, F. J. (2025). Investigating the Salivary Biomarker Profile in Obesity: A Systematic Review. *Current obesity reports*, *14*(1), 25. <https://doi.org/10.1007/s13679-025-00618-y>

Noubiap, J. J., Nansseu, J. R., Lontchi-Yimagou, E., Nkeck, J. R., Nyaga, U. F., Ngouo, A. T., Tounouga, D. N., Tianyi, F. L., Foka, A. J., Ndoadoumgue, A. L., & Bigna, J. J. (2022). Geographic distribution of metabolic syndrome and its components in the general adult population: A meta-analysis of global data from 28 million individuals. Diabetes research and clinical practice, 188, 109924. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2022.109924>

Pigeot, I., & Ahrens, W. (2025). Epidemiology of metabolic syndrome. Pflugers Archiv : European journal of physiology, 477(5), 669–680. <https://doi.org/10.1007/s00424-024-03051-7>

Protein Data Bank in Europe [PDBe]. (2022, 10 maart). *The wonders of salivary amylase.* ebi.ac.uk. Geraadpleegd op 12 oktober, 2025, van <https://www.ebi.ac.uk/pdbe/articles/wonders-salivary-amylase>