

LISELOTT LINDH, leg tandläkare, spec oral protetik, odont dr, forskarassistent vid avdelningen för oral protetik, odontologiska fakulteten, Malmö Högskola, Malmö

Grundläggande processer vid salivfilmbildning

– adsorption från saliv respektive salivproteiner till modellytor

◉ Den 29 april 2002 försvarade legitimerade tandläkaren Liselott Lindh sin avhandling för odontologie doktorsexamen *”On the adsorption behaviour of saliva and purified salivary proteins at solid/liquid interfaces”* vid avdelningen för oral protetik, odontologiska fakulteten, Malmö Högskola.

Fakultetsopponent var George L. Grobe III, PhD, Director of Material & Surface Science, Bausch & Lomb Rochester, USA. Handledare under avhandlingsarbetet var professor Per-Olof Glantz, avdelningen för oral protetik, odontologiska fakulteten, Malmö Högskola.

Syftet med avhandlingen var att öka kunskapen om de grundläggande processerna vid uppbyggnaden av en salivfilm.

AUTOREFERAT

ORDFÖRKLARINGAR

Adsorbera	fästa på en yta utan att tränga in i den
Affinitet	mått på storleken av attraktion till (i detta sammanhang) en yta
Amfifil karaktär	innehåller både hydrofila (vattenälskande) och hydrofoba (vattenavvisande) delar
BSM	mucin från munbottenkörtlarna från nötkreatur (molekylvikt ~ 4 000x10 ³ Dalton)
Elektrostatisk växelverkan	växelverkan som beror av laddningar
HPS	saliv från öronspottkörteln
HSNSLS	saliv från munbottenkörtlarna
HWS	helsaliv
Hydrofob växelverkan	växelverkan som beror av hydrofoba delars avsky för vatten
MUC5B	högmolekylärt muköst glykoprotein (molekylvikt ~11 000x10 ³ Dalton)
PRP	låg-molekylärt surt prolinrikt protein (molekylvikt 10–30x10 ³ Dalton)
PRP-1	låg-molekylärt surt prolinrikt protein 1 (molekylvikt ~ 16x10 ³ Dalton)
PRP-3	låg-molekylärt surt prolinrikt protein 3 (molekylvikt ~ 11x10 ³ Dalton)
Statehrin	låg-molekylärt tyrosinrikt protein (molekylvikt ~ 5x10 ³ Dalton) p
Vätbarhet	till vilken grad en yta väts av en vätska (kan karaktäriseras med hjälp av kontaktvinkelmätningar)

Saliven har avgörande betydelse för att upprätthålla normala fysiologiska förhållanden i munhålan och deponerar spontant en film på både slemhinnor och tänder. Denna film, som bildas genom selektiv proteinadsorption, har stor profylaktisk betydelse genom sin skyddande funktion och befrämjar därigenom oral hälsa. Många av salivens skyddsfunktioner tillskrivs dess proteinkomponenter. Några av de adsorberade salivproteinerna har en smörjande funktion (bland annat mucin och staterin) som är viktig bland annat för förmågan att kunna svälja och tala obehindrat, men också för att förhindra slitage mellan tandytor vid tuggning. Vissa salivproteiner upprätthåller kalciumjämvikten på emaljytan (bland annat staterin och sura prolinrika proteiner (PRP)), vilket är viktigt för att minska risken för demineralisering av ytan samt för remineralisering av initiala kariesangrepp. Dessutom har bland annat PRP, staterin och muciner betydelse för styrningen av mikrofloran på olika sätt, viktigt ur såväl kariologisk som parodontologisk synvinkel. Den initiala salivfilmen är alltså av stor betydelse för den vidare utvecklingen av plack. Det är därför väsentligt att öka förståelsen för de grundläggande processerna vid uppbyggnad av denna salivfilm och för att kunna förbättra/utveckla nya saliversättningsmedel samt utveckla nya metoder avseende bland annat plackkontroll.

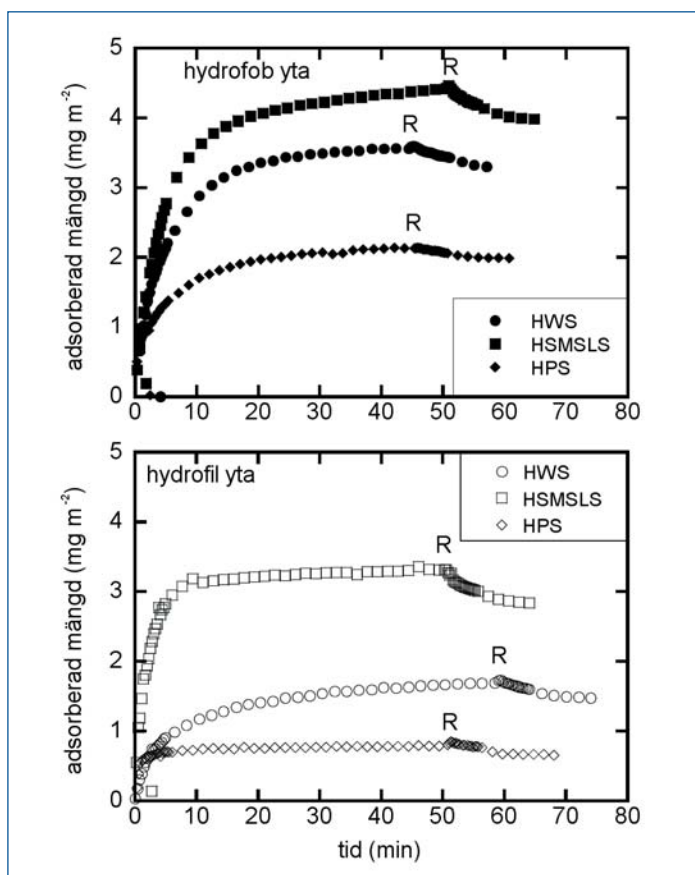
På grund av proteinernas amfifila karaktär adsorberar de till de flesta gränssytor. Själva adsorptionsförloppet är dessutom av stor praktisk betydelse i olika sammanhang till exempel vid medicinska tillämpningar där material kommer i kontakt med vävnader samt vid adhesion av mikroorganismer.

Initialt, då ytan gradvis täcks av adsorberade molekyler, styrs adsorptionen av framför allt hydrofob respektive elektrostatiske växelverkan mellan protein och yta. När mängden proteiner som bundit in på ytan ökat kan även växelverkan mellan dessa och nya anländande proteiner ha betydelse liksom växelverkan mellan de adsorberade proteinerna.

Om adsorptionen sker från en blandning av olika proteiner kan utbyte av adsorberade proteiner ske som ett resultat av affinitet mellan ytan och proteinerna samt hur snabbt dessa kommer till ytan. De molekyler som först anländer till en gränssyta är vanligen de med lägst molekylvikt och de med högst koncentration i lösningen. Med tiden kan det ske ett utbyte av molekyler till de med högre molekylvikt. Ett sådant utbyte av proteiner har observerats i komplexa system, såsom blod, och kallas för "Vromaneffekten".

Syfte

Syftet med avhandlingen [1] var att öka kunskapen



FIGUR 1. Mängden protein som fäster på en hydrofob respektive hydrofil yta (mg m^{-2}) från HWS, HPS och HSMSLS som en funktion av tiden (min). Saliven späds ut genom en sköljning (R i figuren) under fem minuter.

om de grundläggande processerna vid uppbyggnaden av en salivfilm genom att studera den initiala adsorptionen av salivproteiner till ytor med väldefinierade kemiska ytegenskaper. I förlängningen kan detta visa vilka salivkomponenter som har nyckelroller i uppbyggnad och funktion hos salivpelliklar.

Material och metod

I delarbete I och II studerades framrenade salivproteiner såsom humant mucin, (MUC5B) och kommersiellt tillgängligt bovin submaxillärt mucin (BSM) [2] respektive de sura prolinrika proteiner PRP-1 och PRP-3, samt staterin [3]. I delarbete III och IV studerades vilosaliv från öronspottkörteln och munbottenkörtlarna [4] respektive hel vilosaliv [5]. Samtliga studier är gjorda *in vitro*.

Adsorptionen studerades med hjälp av ellipsometri, som är en avancerad optisk teknik. Tekniken möjliggör analys av adsorption under tiden som den pågår utan att störa systemet och med en tidsupplösning som är relevant i många biologiska system. Fördelar med metoden är bland

annat en god känslighet vid mätning av skikt-tjocklek, vilken kan mätas ner till några få Ångström (det vill säga mätning av filmer på molekylär nivå). Begränsningar med metoden är bland annat att ytan man mäter på måste vara jämn och reflekterande.

I samtliga experiment användes hydrofil kisel, dels som den var och dels sådan som gjorts hydrofob. Dessa ytors vätkbarhet täcker väl in tandytor och de flesta dentala material (från porslin (hydrofil yta) till plast (hydrofob yta)).

Resultat

Studierna visar att mängden material som adsorberat på ytan är starkt relaterat till proteinkoncentrationen i studerad saliv och renframställda proteiner. Jämförelse av adsorberad mängd mellan salivlösningarna och de renframställda proteinerna tyder på att sammansättningen av salivfilmen är komplex. Till exempel visade det sig att bland annat mängden adsorberat material från saliv från munbottenkörtlarna var större än från saliv från örnsrott-körteln, vilket tyder på kvalitativa skillnader i de adsorberade filmerna (se figur 1). Det framgår dessutom i figur 1 att på den hydrofoba ytan byggs filmen upp kontinuerligt under den tid adsorptionen mäts (45–60 minuter) för alla tre saliverna, medan detta endast sker för hws på hydrofil yta. För HSMLS och HPS uppnår den adsorberade mängden ett maxvärde efter cirka tio minuter på den hydrofila ytan. Detta innebär dock inte att filmens sammansättning är statisk utan att dess sammansättning fortfarande kan förändras genom utbyte av molekyler över tiden ("Vroman-effekten"). För att se hur mycket av filmen som sitter kvar då saliven späds ut genomförs en sköljning (R i figuren) under fem minuter. Därefter ser man att huvuddelen av filmen fortfarande sitter kvar.

Generellt sett har salivproteiner högre bindningsförmåga till hydrofoba ytor. Observationer av adsorptionshastigheten indikerar att adsorptionen av proteiner från undersökta saliver sker med hastigheter motsvarande de hos staterin, PRP-3 och PRP-1 på hydrofila ytor. På hydrofoba ytor förefaller det emellertid vara komponenter med lägre molekylvikt (snabbare diffusion) som adsorberar initialt.

Resultaten indikerar vidare att i saliven från munbottenkörtlarna är det andra komponenter än MUC5B som är viktiga vid den initiala uppbyggnaden av filmen, vilket kan förklaras som ett "Vroman"-liknande fenomen. I saliven från örnsrott-körteln förefaller PRP-1 vara en betydande komponent vid den initiala filmbildningen. Inga statistiska skillnader fanns mellan individerna avseende den adsorberade mängden från respektive saliv.

Konklusion

- Skillnader i proteinsammansättningen mellan helsaliv, parotissaliv och submandibularis/sublingualissaliv återspeglas tydligt i adsorptionsbeteendet hos desamma.
- Analys av initiala adsorptionshastigheten indikerar att det är små proteiner, som till exempel staterin och PRP, som fäster först på ytorna och som där igenom kan fullborda sina funktioner omedelbart. Det är inte förrän senare de stora proteinerna, till exempel muciner fäster på ytorna. Även peptider, som resultat av proteolytisk degradering, har betydelse vid pelliceluppbyggnaden. PRP-1 förefaller vara en nyckelkomponent i den initiala adsorptionen från parotissaliv.
- Förhållandet mellan koncentrationerna av till exempel muciner, PRP och staterin i saliv kan vara viktigt för hur sammansättningen av den etablerade pelliceln blir.

Referenser

1. Lindh L. On the adsorption behaviour of saliva and purified salivary proteins at solid/liquid interfaces. *Swed Dent J* 2002 (Suppl. 152): 1–56.
2. Lindh L, Glantz P-O, Carlstedt I, Wickstrom C, Arnebrant T. Adsorption of MUC5B and the role of mucins in early salivary film formation. *Colloid and Surfaces B: Biointerfaces* 2002; 25: 139–46.
3. Lindh L, Glantz P-O, Strömberg N, Arnebrant T. On the adsorption of human acidic proline rich proteins (PRP-1 and PRP-3) and statherin at solid/liquid interfaces. *Biofouling* 2002; 18: 87–94.
4. Lindh L, Glantz P-O, Isberg P-E, Arnebrant T. An *in vitro* study of initial adsorption from human parotid and submandibular/sublingual resting saliva at solid/liquid interfaces. *Biofouling* 2001; 17: 227–39.
5. Lindh L, Arnebrant T, Isberg P-E, Glantz P-O. Concentration Dependence of Adsorption from Human Whole Resting Saliva at Solid/Liquid Interfaces – an Ellipsometric Study. *Biofouling* 1999; 14: 189–96.

Adress:

Liselott Lindh, Avdelningen för oral protetik, Odontologiska fakulteten, Malmö Högskola, 205 06 Malmö
E-post: liselott.lindh@od.mah.se