

! Autoreferat
Godkänt för publicering 6 januari 2018

Svavelvätets roll vid parodontala sjukdomar

Svavelväte kan vara av vikt vid parodontal sjukdomsutveckling genom att påverka kroppsegna celler och på så sätt bidra till inflammation, visar denna avhandling. Plackets förmåga att bilda svavelväte kan testas kliniskt med ett vismuttest.



Författare

Amina Basic, tdl, odont dr, Avd för oral mikrobiologi och immunologi, Inst för odontologi, Sahlgrenska akademien, Göteborgs universitet.
E-post: amina.basic@gu.se

Studierna har finansierats av TUA VGR, Svenska Tandläkarsällskapet och Göteborgs Tandläkarsällskap. Det finns inga professionella omständigheter eller kommersiella relationer att rapportera.

Bakterier har en viktig roll vid parodontala sjukdomar och behandling består i dag av att minska på bakteriemängden. Vad bakterierna gör i tandköttsfickan och hur deras närvaro kan bidra till sjukdomsutveckling är dock till stor del fortfarande oklart. Svavelväte är en av många metaboliter som bildas som resultat av bakteriernas aktivitet och tillväxt. Syftet med avhandlingen var att studera svavelvätets roll vid parodontal sjukdomsutveckling.

DELARBETE I

Olika arter av orala bakterier studerades *in vitro* med avseende på förmågan att bilda svavelväte. Två metoder användes; vismuttest samt metylenblåmetoden. Båda metoderna är anpassade för att kunna användas även *ex vivo* i kliniken och avläsning sker genom färgförändring av provlösningen. Bakterier som sedan tidigare är associerade med parodontit var också de som bildade stora mängder svavelväte, till exempel *Treponema denticola*, *Prevotella tannerae* och *Parvimonas micra*. *Fusobacterium* spp. visade sig ha den snabbaste förmågan att bilda stora mängder svavelväte.

DELARBETE II

Metoderna – vismuttestet och metylenblåmetoden – testades *ex vivo* på plackprov tagna från fyra tänder per individ. Studien utfördes i små byar i norra Thailand tillsammans med en hjälporganisation, The Princess Mother Medical Voluntary Founda-

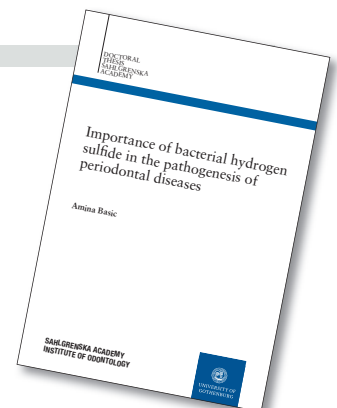
tion, som erbjöd tandvård till befolkningen i denna del av landet.

Totalt valde 43 individer mellan 40 och 60 år att delta i studien som innebar en klinisk undersökning samt subgingivala bakterieprov för kontroll av plackets förmåga att bilda svavelväte med vismuttest samt identifiering av bakterier i placket med DNA-DNA-hybridisering.

Majoriteten av individerna som undersöktes borstade aldrig sina tänder. De flesta hade mycket plack och gingivit, medan några få hade utveck-

Disputation

● Den 20 oktober 2017 försvarade tandläkare Amina Basic sin doktorsavhandling "Importance of bacterial hydrogen sulfide in the pathogenesis of periodontal diseases" vid Sahlgrenska akademien, Göteborgs universitet. Fakultetsopponent var Philip Marsh, University of Leeds, Storbritannien. Huvudhandledare har varit Gunnar Dahlén, Göteborgs universitet.



Avhandlingen kan laddas ner på:
<http://bit.ly/2DpHp8r>

”Plack från sjuka individer producerar mer svavelväte jämfört med friska kontroll-individer och jämfört med patienter som har gingivit.”

lat parodontit. Plackprov tagna från tand 21 hade sämre förmåga att bilda svavelväte jämfört med prov tagna från 16 och 46, vilket indikerar att det approximala placket på molarer har en högre proteolytisk aktivitet jämfört med plack från överkäns incisiver.

Plackets förmåga att bilda svavelväte var inte associerat med sammansättning av bakterier i plackprovet, fickdjup eller blödning vid sondering, utan var beroende av mängden plack samt hur länge den hade funnits.

DELARBETE III

Bakteriella proteiner som deltar i produktion av svavelväte studerades med proteomics-teknologi i samarbete med Malmö Tandläkarhögskola. Proteiner extraherades från bakterierna och separerades på geler med avseende på isoelektrisk punkt och molekylvikt. De svavelväteproducerade proteinerna färgades in med vismut och skickades för analys med masspektrometri.

Fusobakterier hade flertalet olika enzymer som bidrog till produktion av svavelväte. Uttrycket av enzymerna skilde sig åt mellan olika fusobakterier samt när bakterierna odlades i olika miljöer.

DELARBETE IV

Blodceller (mononukleära leukocyter) från åtta anonyma blodgivare exponerades för svavelväte i 24 timmar. Cellernas utsöndring av två proinflammatoriska cytokiner, IL-1 β och IL-18 mättes. Celler som exponerats för svavelväte utsöndrade större mängd av cytokinerna jämfört med kontroller. Även cellinjer testades *in vitro* och resultaten visar att utsöndringen av IL-1 β och IL-18 sker via ett multiproteinkomplex, den så kallade NLRP3-inflammasomen, när cellerna exponeras för svavelväte.

DELARBETE V

Utsöndring av IL-1 β och IL-18 från blodceller exponerade för svavelväte jämfördes mellan friska och sjuka individer. Blodceller från patienter med parodontit utsöndrade högre mängd av IL-1 β och IL-18 jämfört med celler från friska individer. När cellerna exponerades för svavelväte utsöndrade även här celler från patienter med parodontit högre mängder. Plack från patienter med parodontit producerade mer svavelväte, vilket testades med vismuttestet, jämfört med plack från friska kontrollindivider.

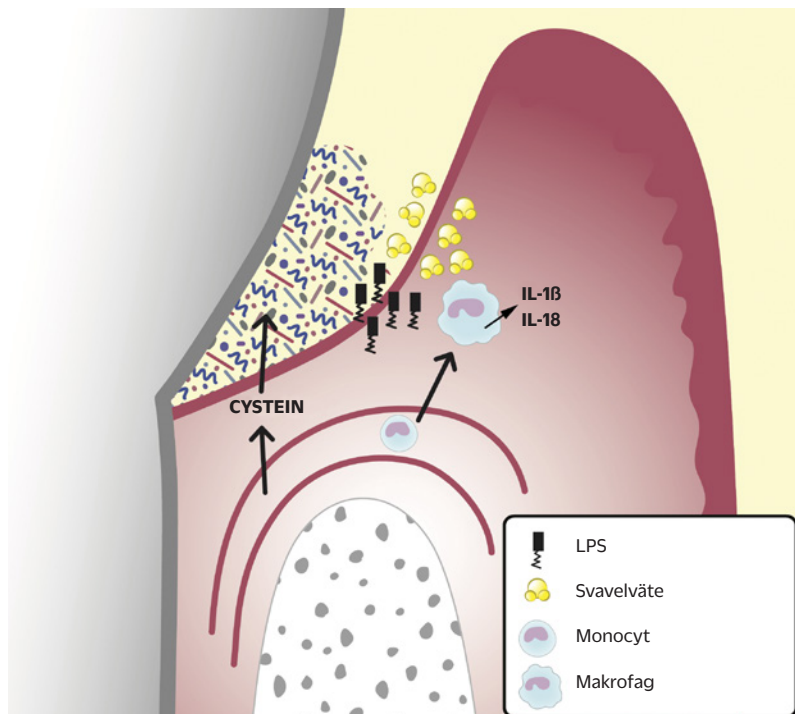


Illustration: My Erwander

Figur 1. Schematisk bild som sammanfattar delarbetena i avhandlingen.

Den parodontalt sjuka fickan är koloniserad av proteolytiska mikroorganismer som har förmågan att bryta ner cystein från gingivalvätskan och bilda svavelväte. Monocyter/makrofager som exponeras för svavelväte utsöndrar de proinflammatoriska cytokinerna IL-1 β och IL-18, vilka kan bidra till inflammation.

Källa: Delarbete IV

SAMMANFATTNING

Bakterier som sedan tidigare är associerade med parodontit har förmåga att bilda stora mätbara mängder av svavelväte. Plackets förmåga att bilda svavelväte kan lätt testas med vismuttest. Plack från sjuka individer producerar mer svavelväte jämfört med friska kontrollindivider och jämfört med patienter som har gingivit.

Bakterier har olika enzymer som kan bidra till produktion av svavelväte och dess uttryck varierar beroende på miljön. Svavelväte har i sin tur en förmåga att påverka kroppsegna celler att utsöndra de proinflammatoriska cytokinerna IL-1 β och IL-18, och på så sätt bidra till inflammation (figur 1). Utsöndringen av dessa cytokiner skilde sig åt mellan patienter med parodontit och friska kontrollindivider, vilket kan vara en faktor i individens mottaglighet för sjukdomsutveckling. ●

Delarbeten

- I. Basic A, Blomqvist S, Carlén A, Dahlén G. Estimation of bacterial hydrogen sulfide production *in vitro*. J Oral Microbiol 2015; 7: 28166.
- II. Basic A, Dahlén G. Hydrogen sulfide production from subgingival plaque samples. Anaerobe 2015; 35: 21–7.
- III. Basic A, Blomqvist M, Dahlén G, Svensäter G. The

proteins of *Fusobacterium* spp. involved in hydrogen sulfide production from L-cysteine. BMC Microbiol 2017; 17(1): 61.

- IV. Basic A, Alizadehgharib S, Dahlén G, Dahlgren U. Hydrogen sulfide exposure induces NLRP3 inflammasome-dependent IL-1 β and IL-18 secretion in human mononuclear leukocytes *in vitro*. Clin

and Exp Dent Res 2017; 3: 115–20.

- V. Basic A, Serino G, Leonhardt Å, Dahlén G. Induction of interleukin (IL)-1 β and IL-18 secretion by hydrogen sulfide in periodontitis patients and healthy controls: a clinical cross-sectional study. In manuscript.