



Referentgranskad – accepterad
för publicering 4 maj 2023.

Epitelcellerna i saliv kan ha betydelse för den orala hälsan

Epitelceller är den dominerande celltypen i saliv. Under senare tid har forskningsstudier visat att dessa celler dels kan binda bakterier, dels innehåller biologiskt viktiga peptider. Studierna sätter nytt fokus på epitelceller i saliv och deras eventuella betydelse som medspelare både i försvaret mot skadliga bakterier samt i tillväxt och läkning av epitel.

De huvudsakliga beståndsdelarna i halsaliv är vatten, joner, proteiner, näringsämnen, mikroorganismer och celler [1, 2]. Saliv innehåller både betydelsefulla buffertsystem och α -amylas, som är ett viktigt enzym i nedbrytning av kolhydrater. Dessutom fungerar saliv som bärare av smakämnen till munhålets smakreceptorer och som smörjmedel av slemhinnan för att underlätta sväljning, tuggning och tal. Saliv innehåller också antimikrobiella system som utgör en viktig del i det medfödda immunförsvarets skydd mot patogener.

Eftersom saliv till stor del har sitt ursprung från blodplasman, i en filtrationsprocess som äger rum i de stora salivkörtlarnas ändstyckeceller, kommer dess komposition delvis spegla blodplasmans sammansättning på individnivå. Det är viktigt att beakta att sammansättningen av primärsaliven (saliven i ändstyckena) modifieras under passagen av de stora salivkörtlarnas gångsystem.

Halsaliv innehåller uppseendeväckande många celler och den kan betraktas som en cellsuspension bestående av deskvamerade epitelceller med ursprung från munhåleepitelet [3–6]. Cellerna kan antas bidra till salivens struktur och viskositet, men det är inte fullt klart om cellerna har någon fysiologisk eller patofysiologisk funktion.

Under senare tid har forskningsstudier publicerats som visar att epitelceller i saliv dels kan binda bakterier, dels innehåller biologiskt viktiga peptider – som den antibakteriella peptiden LL-37 och tillväxtfaktorn för epitelceller, Epidermal Growth Factor (EGF) [5, 7, 8]. Dessa studier sätter nytt fokus

på epitelceller i saliv och deras eventuella betydelse som medspelare både i försvaret mot skadliga bakterier och i tillväxt/läkning av epitel.

Syftet med denna berättande översiktsartikel är att uppmärksamma tandvårdspersonal på det faktum att saliv innehåller ett mycket stort antal celler som kan spela roll vid såväl oral hälsa som sjukdom. Vi har hämtat litteratur och referenser från PubMed® genom en bred sökning utan begränsning i tid och utan medveten selektion av de inkluderade studierna.

EPITELCELLER ÄR DEN DOMINERANDE CELLTYPEN I SALIV

Ostimulerad halsaliv har rapporterats innehålla så mycket som cirka 100 000 celler per mL, men stora individuella variationer förekommer [3, 6].

Förutom epitelceller kan saliv även innehålla vita blodkroppar [9, 10]. Det är dock viktigt att konstatera att det finns mycket få, om ens några, vita blodkroppar i saliv från personer med frisk gingiva och parodontium, vilket antyder att vita blodkroppar i saliv framför allt härstammar från inflammerad vävnad och gingivalexudat i samband med gingivit [10].

Genom att tillsätta dithiothreitol (DTT) till halsaliv för att göra den mindre viskös och därefter försiktigt centrifugera salivprovet kan stora mängder epitelceller isoleras [5]. I figur 1 visas en mikroskopisk bild av epitelceller i saliv som isolerats enligt detta protokoll som beskrivs i detalj i referens 5.

Sammanfattningsvis är epitelceller mycket rikligt förekommande i halsaliv, och den helt domi-



Författare

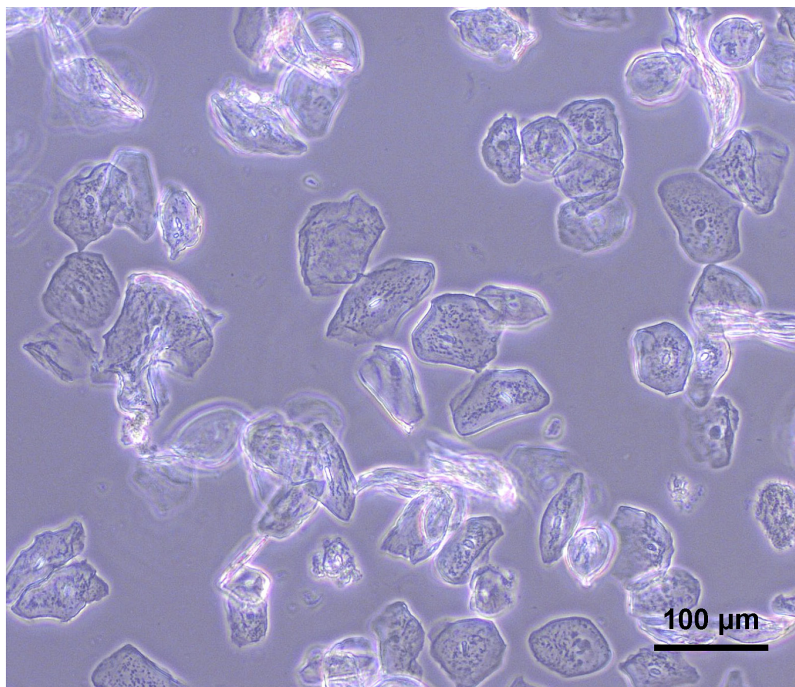
Bengt-Olof Nilsson

(bild), professor i fysiologi, tdl, inst för experimentell medicinsk vetenskap, Lunds universitet, Lund. ORCID 0000-0003-2337-8412

E-post: bengt-olof.nilsson@med.lu.se

Alexandra Aidoukovitch

doktorand, ST-tdl i ortodonti, Folktandvården Skåne; inst för experimentell medicinsk vetenskap, Lunds universitet, Lund. ORCID 0000-0002-3974-909X



Figur 1. Mikroskopisk (faskontrastmikroskopi) bild på epitelceller isolerade från human ostimulerad helsaliv enligt ett protokoll beskrivet i referens [5]. Saliven samlas på morgonen och blandas först med dithiothreitol (DTT). Saliven filtreras sedan för att göra den mindre viskös och efter detta centrifugeras saliven försiktigt. Cellerna hamnar då i botten av provröret. Därefter tvättas cellerna och mikroskoperas sedan utan att fixeras och utan att färgas in. Cellerna är många, mycket stora och har en karakteristisk morfologi med stor cytoplasma och liten cellkärna, vilket beskrivits i flera publicerade studier [3–6]. Storleksmarkören (svart linje) i nedre högra hörnet indikerar 100 μm.

nerande celltypen i saliv från individer med frisk gingiva och parodontium.

EPITELCELLERS MORFOLOGI I SALIV

Deskvamerede orala epitelceller har en karakteristisk morfologi [4, 5]. De är stora celler med liten cellkärna och stor cytoplasma. Cellernas små cellkärnor antyder pyknos, vilket är en process som kännetecknas av reduktion av kärnornas storlek och kondensering av deras innehåll. Pyknos kan ses både vid programmerad celldöd, apoptos, och vid nekros av celler.

Uttryck av en gen kan bestämmas i celler genom att man mäter halten av budbärar-RNA (mRNA) för den aktuella genen. Epitelceller i saliv innehåller låga halter av mRNA för flera olika gener jämfört med andra humana celler och cellinjer, vilket tyder på att epitelceller i saliv har begränsad kapacitet att översätta genuttryck till bildning av cellulära proteiner [6, 8].

Deskvamerede orala epitelceller har sitt ursprung i både keratiniserat och icke-keratiniserat epitel, vilket indikerar att de utgör en heterogen cellpopulation, åtminstone avseende deras uttryck av keratin [4].

Undersökningar i möss visar att epitelceller i munhålan har en snabb omsättning jämfört med hudens epitelceller [11]. Förutom att ha snabb omsättning stöts munhålan epitelceller av till saliv, vilket är faktorer som troligen kan bidra till att deskvamerede orala epitelceller bibehåller en relativt normal cellmorfologi.

DESKVAMERADE ORALA EPITELCELLER BINDER MIKROORGANISMER SAMT HÄRBÄRGERAR ANTIMIKROBIELLT LL-37 OCH TILLVÄXTFAKTORN EGF

I salivprov insamlade från frivilliga försökspersoner har det övertygande demonstrerats, med både konfokal mikroskopi och elektronmikroskopi, att bakterier binder till deskvamerede orala epitelceller [7]. Det är värt att poängtera att en stor majoritet (97 procent) av mikroorganismer i saliv tycks förekomma antingen bundna till varandra i aggregat eller bundna till epitelceller [7]. Eftersom epitelcellerna i saliv finns i mycket stort antal har de troligen kapacitet att binda en avsevärd andel av salivens bakterier, även om varje cell enbart skulle binda ett fåtal bakterier. Deskvamerede orala epitelceller binder snabbt till rena emaljtytor och kan därmed fungera som bärare av bakterier och underlätta bakteriekolonisering av tänder och plackbildning [12].

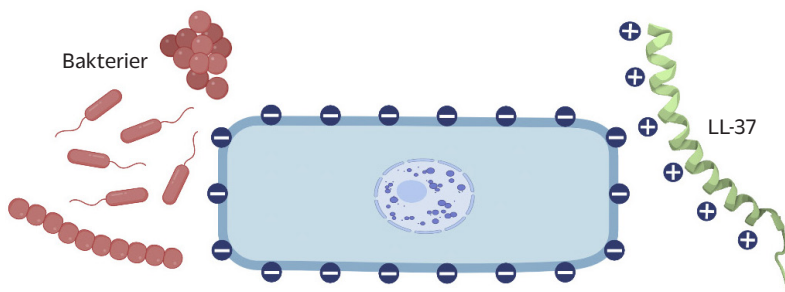
LL-37 är en peptid som bildas av vita blodkroppar och epitelceller och som uppvisar antibakteriell aktivitet mot ett stort antal orala patogener [13]. Den tillhör familjen cathelicidin som inrymmer ett flertal antimikrobiella peptider varav LL-37 är den variant av cathelicidin som finns hos människa. Peptiden finns i saliv och en del av LL-37:s totala innehåll i helsaliv återfinns bundet till epitelceller [5].

Patienter som lider av den sällsynta ärftliga sjukdomen Kostmanns syndrom saknar, eller har mycket lågt antal, vita blodkroppar av typen neutrofila granulocyter samt har inget eller mycket låga nivåer av

”Eftersom epitelcellerna i saliv finns i mycket stort antal har de troligen kapacitet att binda en avsevärd andel av salivens bakterier.”



Deskvamerad oral epitelcell



Figur II. Schematisk bild som visar exempel på komponenter som kan binda till en epitelcell i saliv. På vänster sida av cellen ses olika typer av bakterier och till höger avbildas den antimikrobiella peptiden LL-37. Publicerade studier har visat att bakterier kan binda till epitelceller i saliv och att cellerna kan innehålla LL-37 [5, 7]. LL-37 har sex positiva laddningar som underlättar bindning till epitelcellens negativt laddade plasmamembran.

Figuren är skapad med hjälp av BioRender.com.

LL-37 i saliv och blod [14]. Kostmann-patienterna diagnostiseras i unga år och dessa barn lider ofta av parodontit som kan kopplas till avsaknad av LL-37 och därmed förlust av peptidens antibakteriella aktivitet [14].

Det totala innehållet av LL-37 i saliv representeras av summan av LL-37 bundet till epitelceller och av halten fritt, icke-cellbundet LL-37, och därmed kommer epitelcellerna ha betydelse för mängden biologiskt tillgängligt LL-37 i saliv [5]. I figur II visas schematiskt att bakterier och den antimikrobiella peptiden LL-37 kan binda till epitelceller i saliv.

Deskvamerade orala epitelceller innehåller också peptiden EGF som stimulerar tillväxt och regeneration av epitelceller och epitel [8]. Den tillväxstimerande effekten av EGF hämmas av den parodontitassocierade patogenen *Porphyromonas gingivalis*, och denna mekanism tros kunna bidra

till de vävnadsskador som ses vid parodontit [15].

EGF finns rikligt i parotissaliv hos människa och peptiden anses allmänt kunna bidra till läkning och reparation av munhållans epitel men också av epitel längre ner i mag-tarmkanalen [16–18]. Precis som för LL-37 tycks det totala innehållet av EGF i saliv vara en summering av peptid bundet till epitelceller och av halten fritt, icke-cellbundet EGF, vilket betyder att EGF bundet till epitelceller delvis bestämmer mängden biologiskt tillgängligt EGF.

SAMMANFATTNING

Helsaliv innehåller rikligt med epitelceller. De har en karakteristisk struktur med stor cytoplasma och liten cellkärna, vilket indikerar låg cellviabilitet. Den låga viabiliteten styrks av resultat som visar att cellerna innehåller låga halter av mRNA för många gener jämfört med andra celltyper. Trots att cellerna uppvisar kännetecknen på reducerad funktionell kapacitet har de förmåga att binda bakterier och härberga viktiga peptider som den antimikrobiella peptiden LL-37 och tillväxtfaktorn EGF. Detta kan betyda att epitelceller i saliv snarare fungerar som containrar för mikroorganismer samt peptider än att de själva producerar biologiskt viktiga och kliniskt relevanta hormoner och signalämnen. Cellerna skulle därmed kunna fungera som transportörer av både mikroorganismer och andra viktiga komponenter i saliv och därigenom påverka den orala miljön. Det är därför angeläget att tandvårdspersonal känner till att saliv innehåller ett mycket stort antal deskvamerade epitelceller, och att dessa celler skulle kunna vara av betydelse både vid hälsa och sjukdom. ●

Referenser

- Dawes C, Pedersen AML, Villa A et al. The functions of human saliva: A review sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. Arch Oral Biol 2015; 60: 863–74.
- Pedersen AML, Sorensen CE, Proctor GB, Carpenter GH. Salivary functions in mastication, taste and textural perception, swallowing and initial digestion. Oral Dis 2018; 24: 1399–416.
- Helmerhorst EJ, Dawes C, Oppenheim FG. The complexity of oral physiology and its impact on salivary diagnostics. Oral Dis 2018; 24: 363–71.
- Theda C, Hwang SH, Czajko A, Loke YJ, Leong P, Craig JM. Quantitation of the cellular content of saliva and buccal swab samples. Sci Rep 2018; 8: 6944.
- Aidoukovitch A, Dahl S, Fält F et al. Antimicrobial peptide LL-37 and its pro-form, hCAP18, in desquamated epithelial cells of human whole saliva. Eur J Oral Sci 2020; 128: 1–6.
- Aidoukovitch A, Bankell E, Davies JR, Nilsson BO. Exogenous LL-37 but not homogenates of desquamated oral epithelial cells shows activity against *Streptococcus mutans*. Acta Odontol Scand 2021; 79: 466–72.
- Simon-Soro A, Ren Z, Krom BP et al. Polymicrobial aggregates in human saliva build the oral biofilm. mBio 2022; 13: e0013122.
- Aidoukovitch A, Bodahl S, Tufvesson E, Nilsson BO. Desquamated epithelial cells of unstimulated whole saliva express both EGF transcript and protein. Int J Dent 2022; 2022: 3194703.
- Sharry JJ, Krasse B. Observations on the origin of salivary leukocytes. Acta Odontol Scand 1960; 18: 347–58.
- Schiött CR, Löe H. The origin and variation in number of leukocytes in the human saliva. J Periodontol Res 1970; 5: 36–41.
- Kvidera A, Mackenzie IC. Rates of clearance of the epithelial surfaces of mouse oral mucosa and skin. Epithelial Cell Biol 1994; 3: 175–80.
- Tinanoff N, Gross A. Epithelial cells associated with the development of dental plaque. J Dent Res 1976; 55: 580–3.
- Bechinger B, Gorr SU. Antimicrobial peptides: mechanisms of action and resistance. J Dent Res 2017; 96: 254–60.
- Pütsep K, Carlsson G, Boman HG, Andersson M. Deficiency of antibacterial peptides in patients with morbus Kostmann: an observation study. Lancet 2002; 360: 1144–9.
- Pyrk K, Milewska A, Kantyka T et al. Inactivation of epidermal growth factor by porphyromonas gingivalis as a potential mechanism for periodontal tissue damage. Infect Immun 2013; 81: 55–64.
- Thesleff I, Viinikka L, Saxén L, Lehtonen E, Perheentupa J. The parotid gland is the main source of human salivary epidermal growth factor. Life Sci 1988; 43: 13–8.
- Kim JM, Bak EJ, Chang JY et al. Effects of HB-EGF and epiregulin on wound healing of gingival cells in vitro. Oral Dis 2011; 17: 785–93.
- Konturek JW, Brzozowski T, Konturek SJ. Epidermal growth factor in protection, repair, and healing of gastroduodenal mucosa. J Clin Gastroenterol 1991; 13 Suppl 1: S88–97.