
Ett framtidsscenario för kariesdiagnostik och behandling

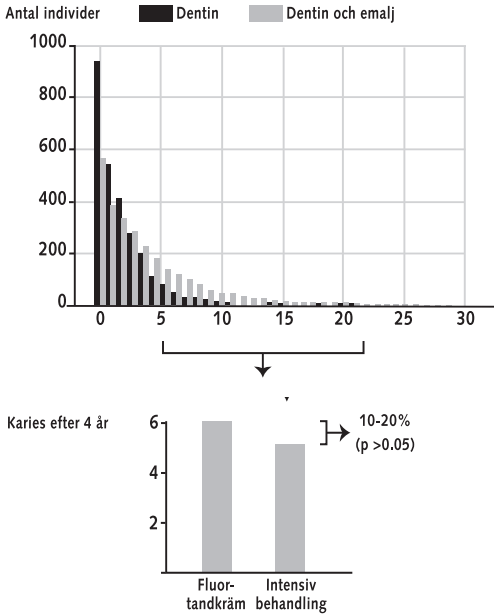
CARINA KÄLLESTÅL, BJÖRN CARLSSON
OCH NICKLAS STRÖMBERG

Kariessjukdom är idag ojämnt fördelad bland skandinaviska tonåringar och traditionella metoder förebygger kariesutvecklingen dåligt. Bättre metoder för diagnostik, förebyggande vård och behandling kan bli resultatet av genteknik och kartläggningen av människans arvsmassa. Med ett DNA-chip stort som ett frimärke kan tandläkaren år 2020 snabbt ta reda på om patientens genuppsättning innehåller anlag för karies, parodontit och andra sjukdomar. Chipet kan också analysera den orala mikrofloras sammansättning. Med denna information öppnas möjligheten för tandläkaren att individualisera behandlingen.

Kariessjukdom idag – problem och utmaningar

Skev kariesfördelning men svaga orsaksfaktorer för riskbedömning

Idag är karies ojämnt fördelad bland svenska tonåringar, där flertalet är friska och ett färre antal (ca 10%) sjuka i ett tvärsnitt¹. Detta gäller även om vi följer kariesutvecklingen över tid, karies ökar endast hos en del ungdomar. En nyligen genomförd longitudinell studie av drygt 3000 svenska 12-16-åriga ungdomar² visar att under åren 1995-99 hade 21% ingen kariesutveckling vare



Figur 1. Kariesökning (inkrement av antalet skadade dentin och emaljytor) under 4 år (1995-99) hos svenska 12-16-åringa (övre bild). I högriskgruppen testades olika preventionsprogram under fyra år av vilka inget gav en signifikant minskning av kariesökningen (nedre bild, vä = kariesutveckling över 4 år i tandborstningsgruppen, hö = kariesutveckling över 4 år i fluorlackningsgruppen).

sig på dentin eller på emaljnivå medan 10% hade en ökning med 10 ytor eller mera (Fig. 1).

I samma studie² redovisas riskfaktorer för kariesökning och att strukturella faktorer som social klass och etnisk tillhörighet har betydelse. Arbetarbarn och ungdomar som ursprungligen inte kommer från Sverige uppvisade högre risk för kariesökning. I övrigt är det dålig tandborstning och ätande av sötsaker som ger 10-20% högre risk för kariesökning.

Riskerna för karies finns alltså både på ett strukturellt och individuellt plan men överriskerna är måttliga, 5-20%. I tidigare studier, som även inkluderat klinisk bild, saliv och bakterietal mm, har man konstaterat motsvarande små överrisker³. Som en jämförelse visar tidiga studier av sambandet mellan rökning och lungcancer överrisker kring 10 gånger. De små överriskerna kan dels förklaras av att karies är en heterogen sjukdom, dels av att de orsaksfaktorer som verkar både på ett individuellt socialt och biologiskt plan är otillräckligt kartlagda.

Det är därför inte förvånande att „klinikerns kompetens“ och aktuell kariesbild fortfarande är de viktigaste faktorerna vid bedömning av en patients risk att utveckla kariessjukdom³. Klinikerns sammanvägning av gamla och nya kariesskador, fissurana-tomi, fluoranvändning, kost, munhygien och saliv förutsäger framtida karies bättre än traditionella saliv- och bakterietest. Även om tandläkarna utifrån den kliniska bilden ofta gissar antalet framtida kaviteter rätt⁴ så är målet att riskgruppera patienterna innan symtomen på sjukdom blivit alltför tydliga.

En utmaning för 2000-talet är därför att identifiera de genetiska och livsstilsberoende faktorer som betingar dagens kariesfördelning. En lika stor utmaning är att utifrån denna kunskap utforma kostnadseffektiva och individuellt anpassade förebyggande program⁵.

Högriskpatienterna svarar inte på traditionella förebyggande insatser

Mot bakgrund av vår otillräckliga kunskap av orsaksfaktorerna för den ojämna kariesfördelningen, är det inte förvånande att högkariesgruppen tycks utveckla karies trots traditionella profylaxprogram (Fig. 1). I vår studiegrupp² utvärderades nämligen även effekten av fyra traditionella profylaxprogram under fyra år: a) tandborstning med fluor, b) fluorsköljning, c) fluorlackning (tre gånger under en vecka, två gånger per år) och d) individuell rådgivning om kost och munhygien kombinerat med fluorlackning fyra gånger per år. Endast fluorlackning visade en svagt förebyggande effekt även om den inte kunde säkerställas statistiskt (Fig. 1). I den gruppen utvecklade man en karierad yta mindre än i gruppen som borstade tänderna med fluortandkräm utan att spotta ur skummet (5 jmf med 6 emalj/dentinkaviteter under fyra år). Som helhet kunde de testade preventionsmetoderna inte alls åstadkomma den låga kariesutveckling som fanns hos ungdomarna med låg risk. Effekten av traditionellt förebyggande åtgärder tycks alltså inte räcka för de ungdomar som har en hög kariesutveckling.

Detsamma har visats i två studier från Finland där ungdomar följdes i två respektive tre år^{6,7} och högriskgruppen fick intensiv prevention jämfört med basprogrammet som gavs till de med låg risk. Den extra preventionen hade liten effekt på högriskgruppen på samma sätt som i vår svenska studie.

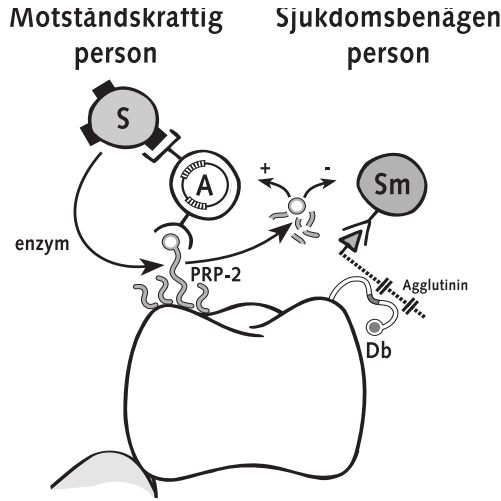
Kariesgener – förnyad kariesdiagnostik och förebyggande åtgärder?

Kariesgener kodar för salivfäste för kariesbakterier

I vårt material av svenska tonåringar har vi även jämfört friska och sjuka personer avseende salivens kvalitet och fäste av bakterier⁸. I dessa studier sammanfaller salivens fäste av kariesbakterier starkare med kariesbenägenhet (Fig. 2) än traditionella markörer, som t.ex. lactobacill- och mutanstal, sockerintag, munhygien och fluor. I sin tur sammanfaller salivens bakteriefäste med dess sammansättning av prolinrika proteiner (PRP) och agglutinin, vilka är naturliga fäste- respektive aggregeringspunkter för bakterier (Fig. 2).

PRP bildas från två gener på kromosom 12 (PRH1 och PRH2) som kodar för fem i populationen vanligt förekommande proteinvarianter, inklusive Db och PRP-2. Dessa proteinvarianter skiljer i aminosyrasekvens och därmed också i egenskaper. De vanligaste PRP-varianterna, t.ex. PRP-2, är typiska för friska personer med bra salivfäste för normalflorebakterier som streptokocker och aktinomycter⁸. Typiskt för dessa personer är också att agglutinin avlägsnar kariesbakterier via aggregering i saliven (Fig. 2).

Den mindre vanligt förekommande PRP-varianten, Db (med 21 extra aminosyror), är typisk för kariesbenägna personer⁸. Tillammans med agglutinin, som kodas av en gen på kromosom 2, vidhäftar Db-proteinet mutansstreptokocker hos kariesbenägna personer.



Figur 2. Kariesgener kodar för salivfäste av kariesbakterier. Prolinrika proteiner (PRP) bildas från två gener på kromosom 12 (PRH1 och PRH2). Skillnader i dessa gener hos olika personer ger upphov till varianter av PRP med olika egenskaper. En vanligt förekommande PRP-variant, PRP-2, är typisk för personer med lite karies och bra salivfäste av skyddande streptokock(S)- och Actinomycesarter (A) ur normalfloran. Denna normalflora klyver i sin tur PRP-2-varianten till skyddspeptider. En mindre vanligt förekommande PRP-variant, Db (med 21 extra aminosyror), är typisk för personer med mycket karies och bra salivfäste av kariesbakterier (S. mutans, Sm). Salivfästet skapar Db tillsammans med salivagglutinin, som hos friska personer istället avlägsnar kariesbakterier via aggregering.

Utöver bakteriefäste har PRP-proteinerna flera skyddsfunktioner mot karies, som t.ex. effekter på re- och demineralisering via växelverkan med kalcium och hydroxyapatitkristallen (Fig. 2). Agglutinin är ett multifunktionellt protein för medfödd immunitet och immunologisk övervakning⁹. Det är därför inte förvånande att genvarianter för sådana proteiner korrelerar med kariessjukdom.

Humana genomet och folksjukdomar

Det humana genomprojektet syftar till att kartlägga vår arvs massa och bl a belysa genvarianters betydelse vid folksjukdomar^{10,11}. Det-

ta medför stora möjligheter att kartlägga karies- eller tandlossningsgener. Människans arvs massa om cirka 40 000 gener är idag känd och föremål för mikroanalyser på frimärkesstora DNA-chip där syntetiska DNA-kopior av arvs massan stansats gen-för-gen.

DNA-chipet identifierar skillnader i DNA koden mellan friska och sjuka personer (s.k. sjukdoms- eller benägenhetsgener). Dessa sekvensskillnader utgörs av små naturliga variationer (s.k. SNP, single nucleotide polymorphism) i arvs massan mellan personer vid ungefär vart tusende baspar i DNA koden.

Benägenhetsgener (t.ex. genvarianten för Db) leder inte villkorslöst till sjukdom. Snarare samverkar benägenhetsgener och miljön negativt vid sjukdomsutveckling. Exempelvis samverkar socker och benägenhetsgener vid kariesutveckling. På samma sätt samverkar högt födointag, låg fysisk aktivitet och benägenhetsgener vid utveckling av obesitas (fetma).

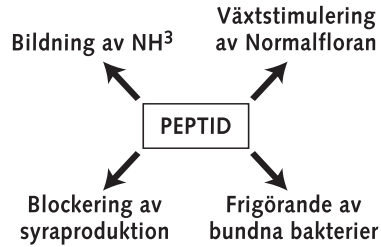
De „kraftfulla genetiska defekter“ som förklarar monogenetiska sjukdomar, som t.ex. amelogenesis imperfecta, leder däremot villkorslöst till sjukdom. Dessa genetiska defekter och associerade monogenetiska sjukdomar är ovanliga jämfört med arvs massans små variationer (SNP) och de folksjukdomar som dessa relaterar till.

Parallellt med människans arvs massa kartläggs också bakteriernas arvs massa. Detta möjliggör användningen av DNA-chip också för diagnostik av bakteriefloran i munnen. I framtiden kan alltså DNA i ett plack- eller salivprov bindas till ett chip med syntetiska DNA-sonder specifika för olika bakterier. Istället för tidskrävande renodlingar och jäsningar av oändliga rader av bakteriestammar överblickas då bakteriesamhällena i en enda analys.

Kariesgener – möjligheter till förnyad diagnostik och prevention?

Redan i den s.k. Vipeholmsundersökningen konkluderades att personers skilda benägenhet att utveckla karies torde inbegripa genetiska skillnader: ungefär 20% av försökspersonerna utvecklade

Figur 3. Läkemedelsliknande peptider från PRP-2-proteinet. Streptokocker i normalfloran bär ett enzym som spjälkar PRP till ArgGlyArgProGln-peptiden med ur kariessynvinkel intressanta egenskaper.



lade aldrig karies trots frekvent intag av toffee-karameller¹². Tvillingstudier har också visat att enäggstvillingar utvecklar liknande mönster av kariessjukdom även om de växt upp under skilda förhållanden¹³.

Kunskap om genvarianter som medför benägenhet eller motståndskraft mot karies kan användas på olika sätt inom den framtida tandvården. Dels för tidig diagnostik av „friska“ respektive „sjuka“ samt för att särskilja olika typer av kariessjukdom. Dels i rent livsstils eller genetiskt betingad kariessjukdom respektive i typer där de molekylära orsaksmekanismerna skiljer sig åt. I sammanhanget är det noterbart att vissa individer i Vipeholmsundersökningen fortsatte att utveckla karies trots kolhydratrestriktion.

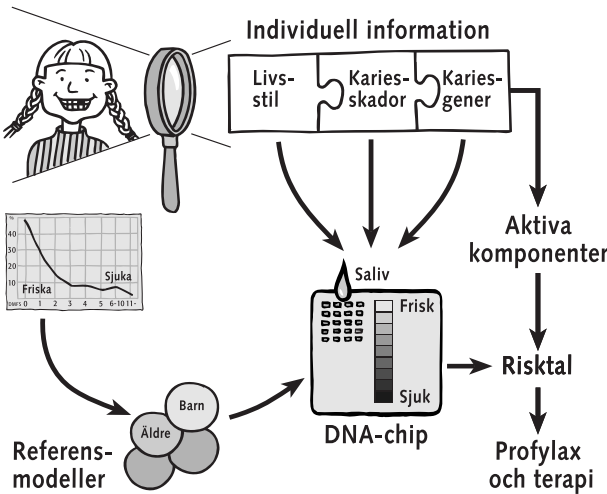
Dessutom kan nya förebyggande och terapeutiska preparat utvecklas. Utöver att vidhäfta till PRP-2 klyver normalfloran detta protein till ArgGlyArgProGln och andra peptider (Fig. 2). ArgGlyArgProGln uppvisar ur kariessynvinkel intressanta egenskaper¹⁴. Den frisätter bundna *Actinomyces*-bakterier, den höjer pH i plack, motverkar syraproduktion samt stimulerar tillväxt av normalfloran som konkurrerar ut kariesbakterierna (Fig. 3).

Sammanfattning – ett tandläkarbesök år 2020?

Ett tandläkarbesök år 2020 kan inledas med att en laserkamera läser av patientens kariesskador som överförs till ett datorpro-

gram (Fig. 4). Via ett självillustrerande datorprogram informeras patienten om genetiska tester och efter dennes godkännande tas ett blodprov för analys av benägenhetsgener. Denna analys görs en gång och informationen ägs av patienten. Analyser görs också av saliv- och mikrobiologiska, liksom av livsstilsberoende, faktorer som överförs till samma datorprogram.

Datorprogrammet väger samman den komplexa informationen till exakta risktal för karies och parodontit utan att information förloras. Idag finns kraftfulla matematiska metoder för att väga samman information ur datamönster omöjliga att tolka direkt¹⁵. Istället för sådana exakta och sammanvägda provvärden för flera faktorer har vi hittills använt förenklade gränsvärden för enstaka faktorer, t.ex. mutansmiljonär eller inte. På så sätt förloras en stor del av den möjliga informationen.



Figur 4. Diagnostik av riskindivider år 2020. Vid framtida tandläkarbesök kan information om livsstil, kariesskador och sjukdomsgener analyseras med nya metoder. Med kraftfulla datorprogram vägs informationen samman till exakta risktal för den individuella patienten. I en framtid kan kunskapen om sjukdomsgener leda till en för individen skräddarsydd prevention och behandling.

Utifrån informationen individualiseras förebyggande vård och behandling som sedan följs, t.ex. genom att laserkameran avläser patientens kariesbild. Att registrera tidiga kariesangrepp (eller paradontala skador) blir en viktig del av framtida strategier för individuella preventionsprogram. Idag utvecklas laser- och fluorescenstekniker för att i en sorts ögonblicksbild förstora upp kariesangreppen¹⁶. Med sådana „förstoringsglas“ kan vi få en fullständigare bild av kariessymtomen medan de är reversibla och på ett kontrollerat sätt avläsa effekten av behandlingen.

Datorprogrammet listar sedan de mest troliga orsaksfaktorerna eller inblandade generna i fallande ordning. På så sätt individualiseras prevention och behandling baserat på patientens egen profil. I en framtid kan det också visa sig att benägenhetsgener för karies eller tandlossning kan ha betydelse även för andra folksjukdomar som t.ex. fetma, hjärt-kärlsjukdom och diabetes. Kanske påverkas också tandläkarens yrkesroll av en sådan utveckling.

LITTERATUR

- 1 Flinck A, Källestål C, Holm A-K, Allebeck P, Wall S. Distribution of caries in 12-year old children in Sweden. Social and oral health related behavioural patterns. *Community Dent Health* 1999;16:160-5.
- 2 Fjelddahl. Evaluation of caries prevention – a four year longitudinal study in Swedish adolescents [dissertation]. Umeå and Göteborg University, 2001.
- 3 Stamm JW, Disney JA, Beck JD, Weintraub JA, Stewart PW. The University of North Carolina caries risk assessment study: final results and some alternative modelling approaches. I: *Cariology for the nineties*. Bowen WH, Tabak LA, eds. Rochester NY: University of Rochester Press, 1993:209-34.
- 4 Alanen P, Hurskainen K, Isokangas P, Pietila I, Levanen J, Saarni UM, Tiekso J. Clinician's ability to identify caries risk subjects. *Community Dent Oral Epidemiol* 1994;22:86-9.
- 5 WHO (Socialdepartementet, Folkhälsoinstitutet, Socialstyrelsen, Nationella folkhälsokommittén). Hälsa 21 – Hälsa för alla på 2000-talet. 1999.

- 6 Seppä L, Hausen H, Pöllänen L, Kärkkäinen S, Helasharju K. Effect of intensified caries prevention on approximal caries in adolescents with high caries risk. *Caries Res* 1991;25:392–5.
- 7 Hausen H, Kärkkäinen S, Seppä L. Application of the high-risk strategy to control dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2000;28:26-34.
- 8 Stenudd C, Nordlund Å, Ryberg M, Johansson I, Källestål C, Strömberg N. The association of bacterial adhesion to dental caries. *J Dent Res* 2001;80:2005-10.
- 9 Prakobphol A, Xu F, Hoang M, Larsson T, Bergström J, Johansson I, et al. Salivary agglutinin, which binds *Streptococcus mutans* and *Helicobacter pylori*, is the lung scavenger receptor cysteine-rich protein pg-340. *J Biol Chem* 2000;80:39860-6.
- 10 Collins FS. Shattuck lecture – medical and societal consequences of the human genome project. *N Engl J Med* 1999;341:28–37.
- 11 Brown PO, Botstein D. Exploring the new world of the genome with DNA microarrays. *Nat Genet* 1999;21(1 Suppl):33-71.
- 12 Gustavsson BE, Quensel C-E, Swenader-Lanke L, Lundqvist C, Grahén H, Bonow BE, Krasse B. The Vipeholm dental caries study. The effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years. *Acta Odont Scand* 1954;11:232-364.
- 13 Conry JP, Messer LB, Boraas JC, Aepli DP, Bouchard Jr TJ. Dental caries and treatment characteristics in human twins reared apart. *Arch Oral Biol* 1993;38:937-43.
- 14 Li T, Bratt P, Jonsson AP, Ryberg M, Johansson I, Griffiths W, et al. Possible Release of an ArgGlyArgProGln Pentapeptide with Innate Immunity Properties from Acidic Proline-Rich Proteins by Proteolytic Activity in Commensal *Streptococcus* and *Actinomyces* Species. *Infect Immun* 2000; 68: 5425-9.
- 15 Wold S, Sjöström M, Eriksson L. Partial least squares projections to latent structures (PLS) in chemistry. *In: Encyclopedia of computational chemistry*; von Ragué Schleyer P, ed. London: John Wiley & Sons 1998:2006-21.
- 16 Angmar-Mansson BE, al Khateeb S, Tranaeus S. Caries diagnosis. *J Dent Educ* 1998;62:771-80.