

Imunološki status periapeksnih cista

Immune Response in Subjects with Periapical Cysts

Greta Škaljac-Staudt
Ivana Ciglar
Marina Katunarić

Zavod za dentalnu patologiju
Stomatološkog fakulteta
Sveučilišta u Zagrebu

Sažetak

Humane periapeksne lezije između ostalog su i posljedica patoloških imunih odgovora na dugotrajne podražaje iz sustava korijenskog kanala. U 16 pacijenata s periapeksnim cistama uzeti su biopsijski uzorci u svrhu ispitivanja imunološkog statusa. Detaljna analiza uzoraka tkiva periapeksa odnosila se na ukupne proteine koji su određeni metodom po Lowryju, i imunoglobuline G, A i M razreda određene metodom radijalne imunodifuzije. Vrijednosti imunoglobulina izražene su po gramu ukupnih proteina. Studija je pokazala prisutnost IgG, IgA i IgM različite postotne zastupljenosti i različitih vrijednosti. IgG i IgA su dokazani u 100% slučajeva, a IgM u 33%. Srednja vrijednost dokazane količine IgG u uzorcima periapeksnih cista iznosi 159,4 mg/g, IgA 25,6 mg/g te IgM 1,8 mg/g proteina

Dokazani imunoglobulini u uzorcima periapeksnih cista upućuju na njihovu lokalnu sintezu te isprepletanje imunoloških s ostalim upalnim reakcijama koje su odgovorne u patogenezi periapeksnih cista.

Ključne riječi: imunoglobulini, periapeksna cista

Acta Stomatol. Croat.
1994; 28: 203—208

IZVORNI
ZNANSTVENI RAD

Primljeno: 12. rujna 1994.
Received: September 12, 1994

Uvod

Periapeksne ciste nastaju oko apeksa zuba kao posljedica prodiranja infekta kroz apikalni foramen u područje periapeksa. Posljedično, dolazi do kronične resorptivne upale kosti. Defekt u kosti biva ispunjen granulacijskim tkivom. Unutar "granuloma" postoje epitelni ostaci (Malassezova tjelešca) koji mogu biti potaknuti na rast. Epitel unutar granuloma proliferira a njegovi traci prodiru u granulacijsko tkivo granuloma. Od tračaka tog epitela nastaje epitelna ovojnica ciste. Istovremeno dolazi do "raslojavanja" granulacijskog tkiva pa se od njegovih ostataka stvara vezivna ovojnica ciste.

Dobro je poznato da neliječena bakterijska infekcija pulpe neizbježno dovodi do stvaranja periapeksne lezije. U periapeksne lezije ubrajamo granulome i ciste koji predstavljaju dvije različite stube u razvoju iste upalne lezije. Budući da gangrenozno pulpno tkivo sadrži različite sojeve mikroorganizama, njihovo prodiranje iz sustava korijenskog kanala u područje periapeksa uzrokuje nespecifične i specifične imunološke reakcije. Kao antigeni materijal bakterijskog porijekla djeluju prije svega lipoteihoične kiseline staničnog zida bakterija (1, 2).

Specifične reakcije u periapeksnim lezijama mogu biti posredovane protutijelima ili limfociti-

ma T. Stoga se može reći da se različiti imunološki odgovori mogu upletati u upalne odgovore periapiksnih lezija, pa tako i u njihovu transformaciju, preoblikovanje u periapiksnu cistu. Dokazano je da proliferirajuće epitelne stanice u granulomu imaju na površini antigene, te tako mogu za imuni sustav biti neka vrsta izmijenjenog osobnog antigena. Postoji veći broj teorija koje mogu objasniti mogući autoagresivni proces u granulomu. Imunološki proces bi mogao započeti kao posljedica antigenske mimikrije, tj. isprepletene reaktivnosti između infektivnih čimbenika i drugih antigena u korijenskom kanalu i membranskih antigena epitelnih stanica Malassezovih otočića. Može se pretpostaviti da metabolički produkti Malassezovih otočića mogu imati antigena svojstva i izazivati imuni odgovor. Prema jednoj pretpostavci proteini koje sintetiziraju stanice mogu inducirati imunu reakciju. Ispitivanja periapiksnih cista dokazala su prisutnost limfocita T i B, imunokompetentnih stanica te njihovih produkata, prvenstveno imunoglobulina G, A i M razreda, potom čimbenika osteoklastnog aktiviranja, a sve to upućuje na mogućnost imunoloških reakcija u njima (3, 4). Stoga se humane periapiksne ciste mogu definirati i posljedicom patološkog imunog odgovora na dugotrajni antigeni podražaj iz sustava korijenskog kanala (5, 6).

U granulomu postoje svi uvjeti za indukciju kako humoralnog tako i celularnog imunog odgovora na antigene infekcijskih i drugih čimbenika, koji su prisutni u tijeku razvoja granuloma. Imunološki mehanizmi moduliraju, ako ne igraju i značajniju ulogu u nastanku granuloma. Aktivirane imunokompetentne stanice i njihovi produkti mogli bi uzrokovati destrukciju epitela te dovesti do cistične transformacije granuloma. Ta preobrazba jasno je ovisna o imunološkom odgovoru domaćina na strane ili izmijenjene osobine antigena prisutne u periapiksnim lezijama (7).

Pregledom literature dosadašnjih ispitivanja može se uočiti pretežitost kvalitativnih metoda analize imunološkog statusa periapiksnih cista. Stoga je opći cilj ovog rada kvantitativna analiza uzoraka periapiksnih cista s imunog stajališta. Posebni ciljevi rada odnose se na određivanje i detaljnu analizu ukupnih proteina te imunoglobulina razreda G, A i M u uzorcima biopsije periapiksnih cista kako bi se mogao pojasniti dio patogenetskih mehanizama nastanka i razvoja periapiksne ciste, što bi moglo pridonijeti razu-

mijevanju tijeka tih bolesti. Naposljetku, postavljanjem takvih ciljeva ispitivanja možda će biti moguće dopuniti dosadašnje postupke pri liječenju periapiksnih cista.

Materijal i postupci

Tkivni uzorci periapiksnih cista sakupljeni su na Zavodu za oralnu kirurgiju Stomatološkog fakulteta, a uzimani su u tijeku kirurškog zahvata. Ukupno je uzeto 16 biopsija periapiksnih cista dijagnosticiranih na temelju kliničke slike i simptoma, te radiološke verifikacije. Uzorci tkiva pohranjeni su u Ependorf ampule i čuvani u zamrzivaču na temperaturi od -18°C sve do laboratorijskih ispitivanja koja su obavljena na Zavodu za medicinsku biokemiju Medicinskog fakulteta u Zagrebu.

Uzorci tkiva homogenizirani su u 0,5 ml PBS pufera (NaCl 8,0 g/l; KCl 0,2 g/l; Na_2HPO_4 1,15 g/l; KH_2PO_4 0,2 g/l). Dobiveni homogenati dobro su promiješani na vorteksu te centrifugirani na 3500 okretaja u minuti, a u trajanju od 10 minuta. U supernatantima su određeni ukupni proteini izraženi u g/l, te imunoglobulini G, A i M čije su vrijednosti izražene u miligramima na gram ukupnih proteina (mg/g).

Ukupni proteini određeni su metodom po Lowryju, a imunoglobulini metodom radijalne imunodifuzije na LC Partigen pločama. Koncentracije imunoglobulina određene ovom metodom stavljenе su u omjer s ukupnim proteinima, čime su se dobili točniji i detaljniji podaci o njihovim vrijednostima i količinama u uzorcima periapiksnih cista.

Za korelaciju pojedinih parametara korišten je t-test.

Statistička značajnost određena je na nivou $p < 0,05$.

Rezultati

Rezultati našeg ispitivanja odnose se na dokazane ukupne proteine izražene u gramima na litru (g/l) te imunoglobuline razreda G, A i M izražene u miligramima a u odnosu na gram ukupnih proteina. Tako određene vrijednosti navedenih imunoglobulina daju točnije podatke u odnosu na koncentracije.

Srednja vrijednost količine ukupnih proteina u uzorcima periapiksnih cista u 16 ispitanika

iznosi 3,12 g/l, a u rasponu vrijednosti od 0,16 do 9,70 g/l (tablica 1).

U periapiksnim cistama u svih 16 ispitanih uzoraka dokazani su imunoglobulin A i imunoglobulin G, dok je imunoglobulin M dokazan u 5 slučajeva (tablica 2).

Uzorci periapiksnih cista pokazuju prisutnost IgG srednje vrijednosti u iznosu od 159,4 mg/g proteina. Raspon vrijednosti tog imunoglobulina kreće se od 2,4—390,6 mg/g proteina. IgA ima srednju vrijednost 25,6 mg/g proteina, a raspon vrijednosti kreće se od 0—55,6 mg/g proteina. IgM pokazuje srednju vrijednost 1,8 mg/g proteina, a raspon vrijednosti od 0—7,7 mg/g proteina (tablica 3).

Distribucija IgG u uzorcima periapiksnih cista pokazuje raspon vrijednosti od 0—75 mg/g proteina u 50% slučajeva; u rasponu od 150—225 mg/g te od 300—375 mg/g i od 375—400 mg/g proteina u 17% slučajeva (slika 1).

IgA je u uzorcima periapiksnih cista u 33% slučajeva dokazan u rasponu vrijednosti od 10—20 mg/g proteina, u 17% u rasponu od 0—10

Tablica 1. Proteini izraženi u g/l u periapiksnj cisti

Table 1. The proteins expressed in g/l in the periapical cyst

		x	raspon	SD	SE	KV
periapiksna cista	n = 16	3,12	0,16-9,70	3,87	1,29	1,24

Tablica 2. Učestalost nalaza IgG, A i M u periapiksnj cisti

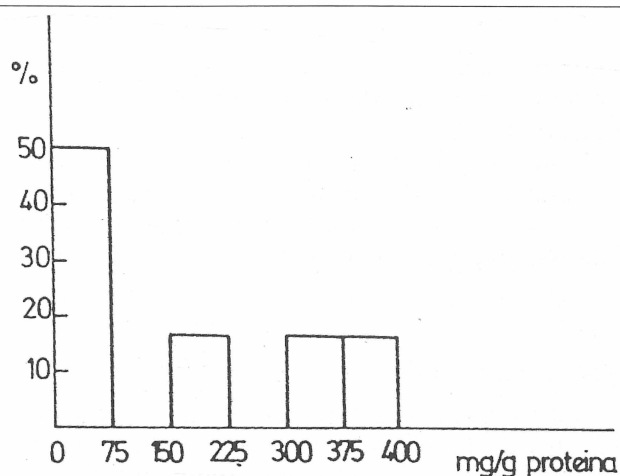
Table 2. The frequency of the IgG, IgA and IgM in the periapical cyst

imunoglobulin	broj testiranih	broj pozitivnih	%
IgG	16	16	100
IgA	16	16	100
IgM	16	5	33

Tablica 3. Količine imunoglobulina G, A i M u uzorcima periapiksne ciste izražene u mg/g proteina

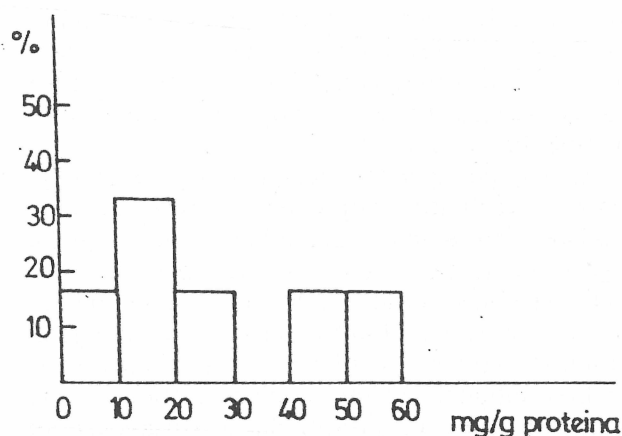
Table 3. The quantities of immunoglobulins G, A and M in the samples of periapical cysts expressed in the mg/g of proteins

		x	raspon
IgG	n = 16	159,4	2,4 - 390,6
IgA	n = 16	25,6	0 - 55,6
IgM	n = 16	1,8	0 - 7,7



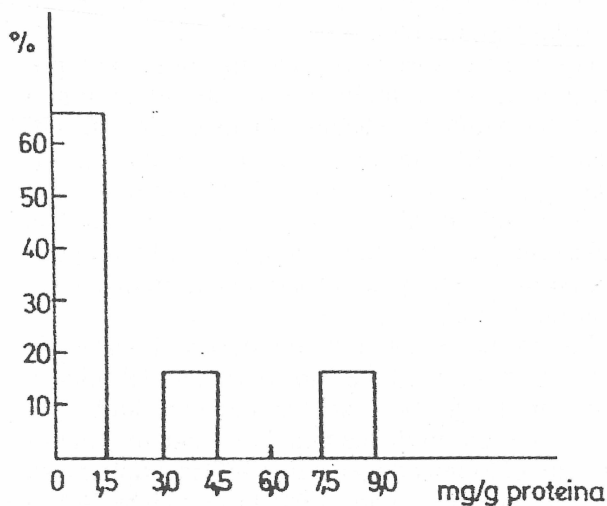
Slika 1. Raspodjela IgG u periapiksnj cisti

Figure 1. Distribution of the IgG in the periapical cyst



Slika 2. Raspodjela IgA u periapiksnj cisti

Figure 2. Distribution of the IgA in the periapical cyst



Slika 3. Raspodjela IgM u periapiksnj cisti

Figure 3. Distribution of the IgM in the periapical cyst

mg/g proteina, u 17% slučajeva od 40—50 mg/g proteina i 17% u rasponu od 50—60 mg/g proteina (slika 2).

Vrijednosti IgM u rasponu su od 0—1,5 mg/g proteina u 67% slučajeva. U 17% vrijednosti mu se kreću od 3,0—4,5 mg/g proteina, te u 17% od 7,5—9,0 mg/g proteina (slika 3).

Rasprava i zaključci

Imunološki status periapiksnih lezija uključujući periapiksne ciste može se odrediti kvalitativnim i kvantitativnim metodama poput imunofluorescencije, imunoelektroforeze, radijalne imunodifuzije. U našim uzorcima, koje smo dobili metodom radijalne imunodifuzije stavljajući koncentracije imunoglobulina u odnos s ukupnim proteinima, dobili smo točnije podatke o koncentracijama, a u preglednoj literaturi nismo naišli na takav način kvantitativnog dokazivanja imunoglobulina (5).

Razvoj periapiksnih lezija u neposrednoj je svezi s različitim sojevima mikroorganizama uskladištenih unutar sustava korijenskog kanala. Dokazano je da su u razvoj periapiksne lezije uključene nespecifične reakcije i imuni mehanizmi domaćina. Mikroorganizmi i izmijenjeno pulpno tkivo u sustavu korijenskog kanala djeluju kao antigeni izazov za plazma stanice koje započinju stvarati protutijela u periapiksnom području. Jednom započeta upala više ne prestaje. Zaštitno djelovanje imunog odgovora neće biti dostatno za sprečavanje širenja upale u periapiksnom području, gdje će se razviti granulacijska lezija.

Ispitivanja postotka prisutnih imunokomponentnih stanica u upalnom infiltratu granuloma i cista pokazuju značajnu razliku. Uočene znatne razlike odnose se na brojnije plazma stanice u periapiksnim cistama, koje sadrže IgA (8, 9). To bi bilo u skladu s našim ispitivanjima koja pokazuju veću postotnu zastupljenost IgA u periapiksnim cistama, u odnosu na kronične periapiksne lezije.

Imunofluorescentnom metodom dokazan je velik broj stanica koje sadrže imunoglobuline u cističnim lezijama. Tako stanice koje sadrže IgA čine 45% ukupnih stanica koje sadrže imunoglobuline. Stanice koje sadrže IgG zastupljene su u istom postotku kao i one koje sadrže IgA u odnosu na ukupan broj stanica koje sadrže imunoglobulin. Stanice koje sadrže IgM čine

svega 5% tih stanica (19). Iako je imunofluorescentna metoda različita od one kojom smo se koristili za dokazivanje imunoglobulina, rezultati su usporedivi jer smo našim ispitivanjem u 16 uzoraka periapiksnih cista dokazali zastupljenost IgA i IgG u 100%, a IgM u 33% slučajeva.

Naši nalazi dokazanih imunoglobulina različite zastupljenosti, te srednje vrijednosti njihove količine redosljedom od najviših vrijednosti IgG, potom IgA i IgM, podupiru pretpostavku o lokalnoj sintezi imunoglobulina u periapiksnim cistama, što pretpostavlja mogućnost uključivanja imunoloških reakcija kao potencijalnih sudionika u cistopatogenezi.

Imunofluorescentno bojenje cističnih zidova pokazuje celularne sastojke pretežno limfocitne i plazma stanice. Osim navedenih staničnih elemenata u cističnom su epitelu prisutne Langerhansove stanice koje sadrže Birbeck ili Langerhans granula. Ona izlučuju FeIgG i C₃ receptore, pa imaju imunološku funkciju sličnu mononuklearnim fagocitima, koji također posjeduju te imunološke biljege (11, 12).

Postavlja se pitanje kako imunoglobulini koje produciraju plazma stanice u cističnom zidu ulaze u cističnu šupljinu. Cistični zid je relativno nepropustan, osobito za velike molekule poput α -makroglobulina. Većina imunoglobulina vjerojatno može prodirati kroz slojeve epitelnih stanica aktivnim celularnim mehanizmom.

Agregati limfoidnih stanica i plazma stanica upućuju na djelovanje stanovitih imunoloških mehanizama u cističnim lezijama. Kako često puta infekcija nije prisutna u periapiksnim cistama, moguće objašnjenje je antigena stimulacija, bilo da epitel djeluje antigeno, bilo da su raspadni produkti epitela antigeni koje organizam domaćina nastoji ukloniti. Moguće je da oba procesa teku istovremeno, pa limfocitni dio reakcije djeluje citotoksično, direktno protiv epitelnih stanica, dok se humoralni elementi (protutijela) pojavljuju kao odgovor na njihove raspadne sastojke.

Mnoge periapiksne ciste nestaju spontano, mnoge se ne povećavaju. Sve to pretpostavlja mogućnost da se njihovi epitelni elementi destruiraju imunološki. Novija istraživanja pokazuju da epitel cista sadrži receptore za Fc fragmente imunoglobulina G, što upućuje na aktivnu ulogu epitela u imunom odgovoru. Naši nalazi mogli bi objasniti mehanizme nastanka i razvoja periapiksnih cista s obzirom na najviše vrijednosti dokazanih imunoglobulina razreda G.

Subepitelna lokalizacija upalnog infiltrata u periapiksnim cistama govori da cistična tekućina sadrži antigene sposobne za održavanje upalnog procesa. Iako su etiološki faktori, neophodni za aktiviranje epitelnih stanica, nepoznati, pretpostavlja se da povećani pritisak CO₂ i hipoksija mogu utjecati na epitelnu proliferaciju (11). Proliferirajući epitel donekle podliježe destruktivnim promjenama. Najnovija ispitivanja pretpostavljaju imunološke reakcije kao jedan od uzroka nastanka mikrošupljina u tijeku razvitka periapiksnog procesa. Ta se pretpostavka potkrepljuje nalazom leukocita, limfocita, plazma stanica i dokazanih imunoglobulina razreda G, A

i M u periapiksnim cistama. To nadalje upućuje na moguću imunološku etiologiju u destrukciji proliferirajućeg epitela i nastanka cistične šupljine (3, 7).

Na temelju dobivenih rezultata moglo bi se zaključiti da u periapiksnim cistama postoje uvjeti za indukciju lokalnog humoralnog imunog odgovora. Uklanjanjem antigenog materijala iz sustava korijenskog kanala endodontskim liječenjem prekida se njegovo prodiranje u tkivo periapiksa. Time se prekida lanac imunoloških reakcija u tom području te se stvaraju uvjeti za ozdravljenje.

IMMUNE RESPONSE IN SUBJECTS WITH PERIAPICAL CYSTS

Summary

Periapical cyst biopsy was performed in 16 subjects to assess their immune response. Total proteins were determined by Lowry's method, and IgG, IgA and IgM by radial immunodiffusion. Immunoglobulin values were expressed in mg/g total protein. The study showed IgG, IgA and IgM to be present in different percentage and amounts. IgG and IgA were found in 100%, and IgM was detected in 33% of the samples. Mean values of IgG, IgA and IgM in periapical cysts were 159.4, 25.6 and 1.8 mg/g total protein, respectively. The values of IgG, IgA and IgM found in the periapical cysts suggested their possible local synthesis and immune response, which may play a role in the pathogenesis of periapical cysts.

Key words: immunoglobulins, periapical cysts

Address for correspondence:
Adresa za korespondenciju:

Doc. dr. Greta Škaljac
Zavod za dentalnu patologiju
Stomatološki fakultet
Gundulićeva 5
41000 Zagreb

Literatura

1. STASHENKO P. The role of immune cytokines in the pathogenesis of periapical lesions. *Endod Dent Traumatol* 1990; 6:89—96.
2. KOPP W, SCHWARTING R. Differentiation of T lymphocyte subpopulations; macrophages and HLA-DR-restricted cells of apical granulation tissue. *J Endodon* 1989; 15:72—75.
3. MATSUO T, EBISU S, SHIMABUKURO Y, OHTAKE T, OKADA H. Quantitative analysis of immunocompetent cells in human periapical lesions. Correlations with clinical findings of the involved teeth. *J Endodon* 1992; 18:497—500.
4. KETTERING Y D, TORABINEJAD M, JONES S L. Specificity of antibodies present in human periapical lesions. *J Endodon* 1991; 17:213—216.
5. BAUMGARTNER C J. Biosynthesis of IgG in periapical lesion explant cultures. *J Endodon* 1991; 17:143—146.
6. BAUMGARTNER C J, FALKLER W A. Reactivity of IgG from explant cultures of periapical lesions

- with implicated microorganisms. *J Endodon* 1991; 17:207—212.
7. TANIN, TOMINGA N, OSADA T, WATANABE K, UMEMOTO T. Immunobiological activities of bacteria isolated from root canals of postendodontic teeth with persistent periapical lesions. *J Endodon* 1992; 18:58—62.
 8. TOLLER P A, HOLBOROW E J. Immunoglobulins and immunoglobulin-containing cells in cysts of the jaws. *The Lancet* 1969; 26:178—181.
 9. TOLLER P A. Immunological factors in cyst of the jaws. *Proc Roy Soc Med* 1971; 64:555—559.
 10. PULVER W H, TAUBMAN M A, SMITH D J. Immune components in human dental periapical lesions. *Archs Oral Biol* 1978; 23:435—443.
 11. TEN CATE A R. The epithelial cell rests of Malassez and the genesis of the dental cyst. *Oral Surg* 1972; 34:956—964.
 12. STERN M, DREIZEN S, MACKLER B F, LEVY M B. Antibody producing cells in human periapical granulomas and cyst. *J Endodon* 1981; 7:447—452.