

*Debreceni Orvostudományi Egyetem Stomatológiai Klinika
(igazgató: Dr. Keszthelyi Gusztáv egyetemi tanár), Debrecen¹
és Debreceni Orvostudományi Egyetem Gyermekklinika
(igazgató: Dr. Karmazsin László egyetemi tanár), Debrecen²*

Akut-fázis fehérjék szerepe a krónikus periapikális granuloma patogenezisében

DR. MÁRTON ILDIKÓ¹, DR. KISS CSONGOR², DR. SZABÓ TERÉZIA²

A periapikális gyulladások etiológiájában legjelentősebb oki tényező a caries [17]. A carieses lézióból baktériumok és szolubilis mediátoranyagai jutnak a pulpába, ahol pulpitis támad. A periapikális szövetek közé terjedő gyulladás jellegzetes patológiai elváltozásokat hoz létre periapikális granuloma, ciszta, alveoláris abszcesszus formájában.

Az idült periapikális léziók legnagyobb hányadában nem lehet kórokozókat kimutatni [4]. A periapikális gyulladás kialakulásáért újabban immunológiai mechanizmusokat tesznek felelőssé [16, 17, 27]. Több munkacsoportnak sikerült a négyféle klasszikus immunreakció sejtes és humorális elemeit kimutatni a granulomában [10, 20, 24, 25]. A specifikus immunválasz eredményeképpen megszorodik a polymorphonuclearis leukocyták és mononuclearis phagocytasejtek száma, belőlük proteolitikus enzimek, toxikus oxigénszármazékok, arachidonsav-metabolitok és citokinek szabadulnak fel, amelyek szöveti károsodást és csontfelszívódást okoznak a periapikális térben [15, 22, 23, 25].

Az immunfolyamat nem korlátozódik a periapikális szövetekre. Állatkísérletekkel igazolták, hogy ha a gyökércsatornából származó antigéneket a periapikális térbe juttatják, szisztémás immunválasz alakul ki [8, 19]. A szervezet egészét érintő lobos folyamatok kiváltása periapikális granulomás betegekben a periapikális lézióban fellelhető aktivált macrophagokból felszabaduló interleukin—1 (IL—1) közvetítésével is elképzelhető. Az IL—1 hatására a szervezet egyéb sejtrendszerei granulocytá—macrophag kolónia stimuláló faktort (GM—CSF), interleukin—2-t (IL—2) és interleukin—6-ot (IL—6) termelnek [29]. A GM—CSF a granulocytá és macrophag sejtek csontvelői termelődését, kiáramlását és funkcióját serkenti [29]. Az IL—2 a T-lymphocyták aktiválódásáért felelős [2, 3]. Az IL—6 pedig az akut fázis fehérjék szintézisét fokozza a májban [18]. Korábbi munkánk során gyökértöméssel és apicoectomiával kezelt periapikális granulomás betegekben az aktív T-lymphocyták arányának és a szérum össz-komplement aktivitásának szignifikáns emelkedését figyeltük meg az apicoectomiát követően [14]. Ez az adat a periapikális lézió „távolhatására” utalt. Más szerzők a szérum opszonizáló képességének és egyes akut fázis fehérjék szintjének megváltozásáról számoltak be egyéb, krónikus gyulladással járó sztomatológiai betegségekből [13, 22]. A szervezetben zajló gyulladásos folyamatok legérzékenyebb indikátora az akut fázis reakció [7].

Jelen munkánk során hat pozitív akut fázis fehérje szérumszintjének meghatározásával vizsgáltuk, hogy van-e kimutatható hatása a periapikális granuloma meglétének, illetve sebészi eltávolításának a szervezet homeosztázisára, gyulladásos rendszereire, egyébként egészséges egyénekben. A vizsgált akut

Érkezett: 1989. március 20.
Elfogadva: 1990. április 12.

fázis fehérjék a következők voltak: α -1-antitripszin (AAT), α -2-makroglobulin (AMG), C-reaktív protein (CRP), haptoglobin (HPT), C 3 komplement komponens (C 3) és coeruloplasmin (CER). Hasonló tanulmányt eddig más munkacsoport nem folytatott.

Anyagok és módszerek

Vizsgálatainkhoz a DOTE Stomatologiai Klinikáján megjelenő 36 granuloma apicales beteget választottunk ki: 22 nőt és 14 férfit, átlagos életkoruk 25,2 év, illetőleg 28,1 év volt. A betegek erősen destruált szuvas foga kopogtatási érzékenységet mutatott, vitalitás vizsgálattal avitális volt, az elkészített röntgenfelvételen periapikális csonttritkulás volt megfigyelhető. A vizsgált személyek többi foga kopogtatási érzékenységet nem mutatott, vitalitás vizsgálattal vitális volt. Parodontitisre utaló jelet nem észleltünk. A vizsgált személyeknek más betegségekre utaló panasza nem volt, nem álltak orvosi kezelés alatt. Az érintett fogakat gyökértöm-tük AH₂₆-tal és guttaperchával, majd apicoectomia történt. A diagnózist szövettani vizsgálattal támasztottuk alá. Az akut-fázis fehérjék szérumszintjét néhány ml könyökvénából nyert vérből határoztuk meg 3 időpontban: az apicoectomia előtt, az azt követő 7. napon, illetőleg 3 hónap elteltével. Az AAT, AMG, CRP, HPT és C 3 meghatározását kinetikus nefelometriás módszerrel, a gyári előírás szerint végeztük el (Beckman Immunochemistry Analyzer II., Beckman Instruments, Fullerton CA). A mérés során a Beckman cég által kiadott savókat, kalibrációs oldatokat és puffereket használtunk. A CER-meghatározás során a coeruloplasmin oxidáz aktivitás a Boyett által leírt kinetikus fotometriás úton történt [6]. Röviden, 50 μ l szérumot inkubáltunk 950 μ mol o-dianizidin szubsztráttal (2,04 μ mol/L o-dianizidin Fluka 0,1 mol/La Na acetát pufferben pH 5,0) 30 °C-on 5 percig. Az optikai denzitás idő függvényében való változásait 435 nm hullámhosszon olvastuk le. Az eredményeket nemzetközi egységben (IU/L, 1 IU = 1 μ mol) (szubsztrát/min) fejeztük ki. A statisztikai szignifikancia szintjét a Student-féle t-próba segítségével határoztuk meg.

Eredmények

Az utánkövetéses vizsgálat során 36 granuloma apicales beteg 6 akut fázis fehérje szérumszintjének alakulását figyeltük meg a sebészi kezelést megelőző időponttól kezdve, az azt követő 3. hónap elteltéig. Ez összesen 444 mérést jelentett. Az eredményeket az I. táblázatban foglaltuk össze. Az apicoectomia előtt 3 akut fázis fehérje: az AAT, a CRP és a CER szérumszintje a normál referenciatartománynál szignifikánsan magasabbnak bizonyult, míg a HPT-koncentráció a normál tartományon belüli volt. Az AMG értéke a normál tar-

I. táblázat

Akutfázis fehérjék szérumszintjei a sebészeti kezelés előtt és után

Fehérje	Normál érték	Mintavételi időpont		
		I.	II.	III.
AAT	(g/L) 1,08—2,90	3,02 $\pm$ 1,01	2,26 $\pm$ 1,00*	2,13 $\pm$ 0,73*
AMG	(g/L) 1,04—2,80	2,80 $\pm$ 1,01	1,78 $\pm$ 1,13*	1,81 $\pm$ 0,70*
CRP	(mg/L) >5,00	6,58 $\pm$ 4,15	6,44 $\pm$ 6,70	3,90 $\pm$ 1,84*
HPT	(g/L) 0,50—2,20	0,99 $\pm$ 0,26	0,89 $\pm$ 0,39	0,68 $\pm$ 0,37*
C 3	(g/L) 0,83—1,77	1,65 $\pm$ 0,39	1,53 $\pm$ 0,44	1,38 $\pm$ 0,43*
CER	(IU/L) 80—144	184 $\pm$ 27	143 $\pm$ 45*	140 $\pm$ 32*

* Szignifikánsan alacsonyabb szérumszint ($p < 0,05$)

lin
o-
a-

pi-
le-
é-
en
o-
n-
uló
n-
ni
ml
tt,
és
é-
r-
o-
áz
ul
zi-
ai
Az
z-
el

tomány felső értékét mutatta, a C 3-szint pedig a normál tartomány felső értékének közelében helyezkedett el. A műtétet követő 7. napon a 3 akut fázis fehérje, az AAT, az AMG és a CER értékének szignifikáns ($p < 0,05$) csökkenése volt megfigyelhető. A többi akut fázis fehérje szérumszintje ebben a mérési időpontban még nem változott lényegesen. 3 hónap elteltével azonban, valamennyi akut fázis fehérje szignifikáns ($p < 0,05$) csökkenését észleltük. A szérumszintcsökkenés mértéke a CRP esetében volt a legkifejezettebb, mintegy 41%-os (I. táblázat).

Megbeszélés

Jelen munkánk során elsőként vizsgáltuk és követtük nyomon akut fázis fehérjék szérumszintjét granuloma apicales betegekben, a lézió gyökértömés-sel és apicoectomiával történő gyógyítása előtt és azt követően 7 nappal, illetőleg 3 hónappal. Néhány más, krónikus sztomatológiai gyulladás esetében korábban már közöltek adatokat ezen fehérjék jellegzetes szérumszint-változásáról [1, 5, 21]. A kezelés előtt 3 akut fázis fehérje, a CRP, az AAT és a CER szintjét kórosan emelkedettnek találtuk, két további fehérje, az AMG és a C 3 koncentrációja a normál referenciatartomány felső határának felelt meg. Ez a megfigyelés önmagában is kisfokú akut fázis reakció megléte, általános, a szervezetet érintő gyulladás fennállása mellett szól. Még meggyőzőbben bizonyítják az akut fázis reakció fennállásának szerepét utánkötéses adataink. A kezelést követően 7 nappal három: AAT, AMG és CER, míg a kezelést követően 3 hónappal, valamennyi vizsgált fehérje szérumszintjében statisztikailag szignifikáns csökkenést találtunk. A kezelést 3 hónappal követően mért eredményeink egyúttal arra utalnak, hogy a gyökértömés és az apicoectomia elvégzésével a szervezetben levő gyulladásos állapot megszűnt, gyógyulás következett be. Az akut fázis fehérjék nemcsak jelzőfunkciót töltenek be, hanem szerepük van magában a gyulladásos folyamatban is. Ebben a vonatkozásban különösen jelentős a proteázgátló hatású AAT és AMG. Az alveoláris szövetkárosodásban mind a baktériumokból, mind pedig a gazdaszervezetből származó proteázok részt vesznek [13, 15, 22]. Az AAT elsősorban a humán szerint proteázokat gátolja jelentősebben, míg az AMG inkább fertőző mikroorganizmusok és a nem szerin típusú humán proteázok eliminálásában játszik szerepet [22, 28]. Ezt a két fehérjét kimutatták már sulcus-folyadékban, sőt sikerült a helyi AMG-koncentráció és az alveoláris csontlebomlás összefüggését is bizonyítani [22, 23]. A CER antioxidáns funkciót tölt be, így a szövetkárosodás és a csontlebomlás kialakulásának megelőzésében jelentős [26]. A HPT szintén antioxidáns hatást fejt ki a hemoglobinnal indukált lipid-peroxidációra [9]. A C 3 komplement komponens szérumszintje akut fázis reakció során akár 50%-kal is megnövekedhet [12]. Granuloma apicaleban már számos szerző kimutatta a C 3 komplement komponens jelenlétét [10, 11, 20, 31]. A C 3-molekula a komplement rendszer aktiválódásának mind a klasszikus, mind pedig az alternatív útjában részt vesz. Ennek során bioaktív molekuláris fragmentumok szabadulnak fel, fokozódik a kapilláris permeabilitás, nő a phagocytasejtek száma és aktivitása az elváltozás területén, ez pedig szöveti károsodás létrejöttéhez és csontlebomlás kialakulásához vezet. A CRP befolyásolja a lobos reakciót és maga is kimutatható a gyulladásos lézió területén [12]. Ez az akut fázis fehérje reagál a leggyorsabban, legérzékenyebben és legkifejezettebb mértékben a szöveti károsodásokra [12, 30]. A mi betegekben is a CRP szérumszintcsökkenése volt a legnagyobb mértékű, szignifikáns változást azonban csupán az apicoectomia elvégzését követően 3 hónappal észlel-

tünk. Ez a megfigyelés azzal magyarázható, hogy feltehetően van még a CRP-szintézishez vezető antigén-kiáramlás a műtési területéről az apicoectomiát követő 7. napon. A granuloma apicale olyan lokalizált szöveti károsodás, mely a krónikus gyulladás jeleit viseli. Jelen tanulmányunk eredményei azt igazolják, hogy ennek a helyi elváltozásnak az egész szervezetet érintő, kimutatható, habár csekély mértékű következményei vannak. A kialakult akut fázis reakció feltehetőleg maga is részt vesz a lobos folyamat szabályozásában. A granuloma apicales fogak gyökér-, majd műtési kezelésével gyógyulás következett be.*

* *Köszönetnyilvánítás:* Szeretnénk köszönetet mondani Kériné Dr. Fülöp Ildikónak a statisztikai feldolgozás elkészítéséért.

IRODALOM: 1. Asman, B., Bergström, K., Wijkander, P., Lockowandt, B.: Influence of plasma components on luminol-enhanced chemiluminescence from peripheral granulocytes in juvenile periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 13, 850, 1986. — 2. Benczúr M.: A sejtközvetítette celluláris immunválasz. Petrányi G., Benczúr M., Falus A. *Klinikai Immunológia. I. Elmélet. Medicina, Budapest, 1988, 191. o.* — 3. Benczúr M., Péterfy F.: Leukokinek, limfokinek, interleukinek. Petrányi G., Benczúr M., Falus A. *Klinikai Immunológia. I. Elmélet. Medicina, Budapest, 1988, 79. o.* — 4. Block, R. M., Bushell, A., Rodrigues, H., Langeland, K.: A histopathologic, histobacteriologic and radiographic study of periapical endodontic surgical specimens. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 42, 656, 1976. — 5. Boucher, N. E., Hanrahan, J. J., Kihara, F. Y.: Occurrence of C-reactive protein in oral disease. *J. Dent. Res.* 46, 624, 1967. — 6. Boyett, J. D., Lehmann, H. P., Beeler, M. F.: Automated assay of ceruloplasmin by kinetic analysis of o-Dianisidine oxidation. *Clin. Chim. Acta.* 69, 233, 1976. — 7. Budavári I.: A gyulladás molekuláris patológiája. *Medicina, Budapest, 1983.* — 8. Dahlen, G., Fabricius, L., Holm, S. E., Möller, A. J. R.: Circulating antibodies after experimental chronic infection in the root canal of teeth in monkeys. *Scand. J. Dent. Res.* 90, 338, 1982. — 9. Gutteridge, J. M. G.: The antioxidant activity of haptoglobin towards haemoglobin-stimulated lipid peroxidation. *Biochem. Biophys. Acta.* 917, 219, 1987. — 10. Johannessen, A. C., Nilsen, R., Skaug, N.: Deposits of immunoglobulins and complement factor C 3 in human dental periapical inflammatory lesions. *Scand. J. Dent. Res.* 91, 191, 1983. — 11. Kuntz, D. D., Genco, R. J., Guttuso, J., Natiella, J. R.: Localization of immunoglobulins and the third component of complement in dental periapical lesions. *J. Endodont.* 3, 68, 1977. — 12. Kushner, I., Gewurz, H., Benson, M. D.: C-reactive protein and the acute-phase response. *J. Lab. Clin. Med.* 97, 739, 1981. — 13. Larivee, J., Sodek, J., Ferrier, J. M.: Collagenase and collagenase inhibitor activities in cervical fluid of patients receiving treatment for localized juvenile periodontitis. *J. Periodontol. Res.* 21, 702, 1986. — 14. Márton I., Harmati S., Kiss Cs.: Komplementszint és T-limfocytaszám meghatározása krónikus periapikális granulómás betegekben. *Fogorv. Szle.* 80, 295, 1987. — 15. Meikle, M. C., Heath, J. K., Reynolds, J. J.: Advances in understanding cell interactions in tissue resorption. Relevance to pathogenesis of periodontal diseases and a new hypothesis. *J. Oral. Pathol.* 15, 239, 1986. — 16. Morse, D. R.: Immunologic aspects of pulp-periapical diseases. A review. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 43, 436, 1977. — 17. Nair, P. N. R., Schroeder, H. E.: Pathogenese periapikaler Läsionen (eine Literaturübersicht). *Schweiz. Mschr. Zahnheilk.* 93, 935, 1983. — 18. Nijsten, M. W., De Groot, E. R., Ten Duis, H. J., Klasen, H. J., Hack, C. E., Aarden, L. A.: Serum levels of interleukin-6 and acute phase responses. *Lancet.* 2, 921, 1987. — 19. Okada, H., Aono, M., Yoshida, M., Munemoto, K., Nishida, O., Yokomizo, I.: Experimental study on focal infection in rabbits by prolonged sensitisation through dental pulp canals. *Arch. Oral. Biol.* 12, 1017, 1967. — 20. Pulver, W. H., Taubman, M. A., Smith, D. J.: Immune components in human dental periapical lesions. *Arch. Oral Biol.* 23, 435, 1978. — 21. Saito, T., Sato, T., Yoshijima, I., Hatekeyama, T., Suzuki, K.: Serum protein analysis by immunoelectrophoresis in patients with periodontal diseases. *Arch. Oral Biol.* 14, 1113, 1969. — 22. Sandholm, L.: Proteases and their inhibitors in chronic inflammatory periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 13, 19, 1986. — 23. Skaleric, U., Zajsek, P., Cvetko, E., Lah, T., Babnik, J.: Alpha-2-macroglobulin in gingival fluid. Correlation with alveolar bone loss in periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 13, 833, 1986. — 24. Skaug, N., Nilsen, R., Matre, R., Bernhoft, C. H., Johannessen, A. C.: In situ characterization of cell infiltrates in

human dental periapical granulomas. J. Oral Pathol. 11, 47, 1982. — 25. Stern, M. H., Dreizen, S., Mackler, B. F., Selbst, A. G., Levy, B. M.: Quantitative analysis of cellular composition of human periapical granuloma. J. Endodont. 7, 117, 1981. — 26. Stocks, J., Gutteridge, J. M. C., Sharp, R. J., Dormandy, T. I.: Assay using brain homogenate for measuring the anti-oxidant activity of biological fluids. Clin. Sci. Mol. Med. 47, 223, 1974. — 27. Torabinejad, M., Bakland, L. K.: Immunopathogenesis of chronic periapical lesions. A review. Oral. Surg. Oral Med. Oral Pathol. 46, 685, 1978. — 28. Travis, J., Salvesen, G. S.: Human plasma proteinase inhibitors. Ann. Rev. Biochem. 52, 655, 1983. — 29. Vadas, M. A., Lopez, A. F., Shannon, M. F., Atkinson, Y.: Human myeloid growth factors. Immunol. Cell. Biol. 65, 141, 1987. — 30. Van Lente, F.: The diagnostic utility of C-reactive protein. Human. Pathol. 13, 1061, 1982. — 31. Yanagisawa, S.: Pathologic study of periapical lesions. 1. Periapical granulomas: clinical, histopathologic and immunopathologic studies. J. Oral. Pathol. 9, 288, 1980.

Márton, I. Dr., Kiss, Cs. Dr. and Szabó T. Dr.: *The roel of acute phase proteins in the pathogenesis of chronical periapical granuloma*

Alpha-1-antitripsin, alpha-2-macroglobulin, C-reactive protein, haptoglobin and complement component C 3 concentrations and oxidase activity of ceruloplasmin were studied in sera of 36 patients with chronic periapical granuloma before and after surgical treatment. Mean serum concentrations of the investigated proteins were slightly elevated at diagnosis, with the exception of haptoglobin. Alpha-1-antitripsin and ceruloplasmin levels decreased significantly 7 days after apicectomy, the four other proteins were unchanged at this sampling time. Each investigated protein decreased significantly 3 months after apicectomy. This is the first longitudinal study of "acute-phase proteins" in chronic periapical granuloma. The results suggest that inflammatory reactions contribute to the maintenance of chronic periapical lesion.