

Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**Immunológiai és inflammatorikus folyamatok vizsgálata krónikus apikális
periodontitiszben**

DR. RADICS TÜNDE

Témavezető: Dr. Márton Ildikó

egyetemi tanár

Debreceni Egyetem

Orvos és Egészségtudományi Centrum

Fogorvostudományi Kar

2004.

1. Bevezetés

A periapikális tér gyulladása leggyakrabban a fogból kevert bakteriális fertőződésének következtében jön létre. A fogbélben zajló védekező folyamatok az esetek döntő többségében sikertelenek a fertőzés leküzdésében, amelynek következtében a pulpa elhal. A fertőzött pulraelhalás ismert oka a pulpaúr kedvezőtlen anatómiai környezete. A merev dentin falak nem tudnak helyet biztosítani a pulpitist kísérő térfogat növekedésnek, így a pulpaúr nyomása jelentősen megemelkedik. A fokozott pulpa nyomás mellé hamarosan a hipoxia szövet károsító hatása is társul. A fertőzött pulpából a baktériumok a periapikális térbe jutnak. A fog üregrendszeréből származó baktériumok irritáló hatása állandósul, mivel a kezeletlen fogban a fertőzést a szervezet védekező erői nem képesek leküzdeni. A gyökércsatorna szövevényes üregrendszere „holt teret” képez, amely a gazdaszervezet védekezése számára nem érhető el kellő eredményességgel, így az ott megtelepedő baktériumok akadály nélkül szaporodnak. A periapikális teret érő károsító hatások eredményeként gyulladásos kórfolyamatok bontakoznak ki. A gyökércsúcs körüli gyulladásos immunfolyamatok az esetek többségében hosszú ideig gátat vetnek a behatolni igyekvő fertőzésnek, annak maradéktalan eliminációjára azonban nem képesek. A periapikális térben zajló védekező reakciót jellegzetes szövettani változások kísérik, amelyet, az immunsejteket jelentős arányban tartalmazó gyulladásos sarjszövet megjelenése és ezzel egy időben az anatómiai struktúrák destrukciója jellemez. A periapikális tér leggyakoribb gyulladásos kórformái a periapikális granuloma és a radikuláris ciszta, amely léziókat jellegzetes klinikai és radiológiai tünetek jellemeznek.

A pulpa és a periapikális tér gyulladásai nemcsak a helyi szöveteket károsítják. A fennálló fertőzéssel együtt járó, a szervezet egészét érintő tartós irritáció szisztémás gyulladásos válaszok komplex sorozatát indíthatja el, amelyek másodlagos kórformák kialakulásának alapját képezhetik.

2. Célkitűzések

Munkám során célul tűztem ki:

- 1.** Az apikális periodontitis hatásának vizsgálatát a szervezet egészének egészségére, ezen belül felmérni a gócvizsgálat céljából intézetünkbe irányított betegek állapotát alapbetegségük és szájüregi gyulladásos lézióik alapján.
- 2.** A krónikus apikális periodontitis léziók szövettani típusainak elkülönítését, az egyes típusok prevalenciájának meghatározását beteganyagunkban, összehasonlítva más munkacsoportok eredményeivel.
- 3.** A granulomatózus és granulofibrotikus típusú periapikális granulomák sejtes összetevőinek kvantitatív meghatározását hisztotechnikai, immunhisztokémiai jelölő módszerek segítségével. A léziókban az immunrendszer sejtes elemeinek aktivált állapotát jellemző sejtfelszíni molekulák (IL-2R α , HLA-DR) megjelenésének vizsgálatát immunhisztokémiai módszerrel.
- 4.** Az immunrendszer sejtes elemeinek (polimorfonukleáris leukociták, makrofágok, T-limfociták) periapikális lézióba történő vándorlását, s az ott kialakuló sejtes infiltrátum összetételét alapvetően befolyásoló kemotaktikus citokinek (IL-8, MCP-1, RANTES) jelenlétének vizsgálatát immunhisztokémiai módszerrel.
- 5.** Két gyulladásos citokin, az IL-6 és a GM-CSF szintjének kvantitatív meghatározását immunkémiai módszerrel különféle szöveti szerkezetű periapikális granuloma szövet-homogenizátumában, valamint az eredmények összehasonlító értékelését különböző betegcsoportokban.

3. Módszerek

1. A stomatológiai betegek áttekintő vizsgálata

Az anamnézis felvételét követően fizikális vizsgálatot végeztünk, melynek során vizsgáltuk és rögzítettük a betegek kariológiai, protetikai és parodontológiai státuszát, valamint a szájnyálkahártya állapotát. Ezt követően érzésvizsgálatot, majd hagyományos ortoradiális felvételt, szükség esetén excentrikus felvételt, illetőleg ortopantomogrammot készítettünk. A betegek státuszát és annak a szükséges kezeléseket követő változásait 1999. 12. 31-ig beteg-kartonon, majd 2000. 01. 01-től a Debreceni Egyetem Orvos és Egészségtudományi Centrumában az erre a célra rendszeresített számítógépes program („DMS V. 3. 4. eNET”) segítségével rögzítettük, illetőleg tekintettük át retrospektív klinikai adatfeldolgozásra épülő tanulmányunk során.

2. Az apikális periodontitisz kórismézése, műtéti indikációk

A diagnózist Torabinejad, a műtéti indikációkat Arens szerint állapítottuk meg. Szimptomásnak tekintettük a beteget, amennyiben a pozitív radiológiai lelethez fájdalom és/vagy duzzanat társult. Az aszimptomás csoportba a periapikális radiolucenciát mutató, de tünetmentes betegeket soroltuk.

3. Vizsgálati anyagok nyerése, tárolása

A periapikális léziókat extrakció, periapikális kürettázs vagy gyökércsúcs rezekció során nyertük. Az extrakció során eltávolított gyulladásos szövetet csak abban az esetben használtuk fel vizsgálatainkhoz, ha az egy darabban, az exrtahált fog gyökeréhez kötötten távozott a periapikális térből. A betegek a kezelés elvégzéséhez, orvosi felvilágosítást követően beleegyezésüket adták. A periapikális szövetmintákat hossztengetyűk mentén feleztük. Az egyik mintafél valamennyi esetben standard hisztológiai feldolgozásra került, a másik mintafelet gyorsfagyasztás után feldolgozásukig tároltuk.

4. A periapikális léziók szövettani értékelése, osztályozása

A szövettani minták előkészítése 10 %-os formalinos fixálás, paraffinos beágyazás és hagyományos technikával történő metszés utáni hematoxin-eozin festéssel történt. Granuloma apikále volt a diagnózis abban az esetben, amikor a minta szöveti képét sarjszövetképződés jellemezte kapilláris-, és fibroblasztos proliferációval, limfo-plazmasejtes beszűrődéssel, elszórtan neutrofil granulociták megjelenésével társulva. A granulációs szövet esetenként proliferáló hámsejteket tartalmazott árkászerű elrendeződésben, emellett habos sejteket, Russel testeket. A radikuláris és reziduális ciszta szövettani képét a granuloma apikáléhoz hasonló felépítésű kötőszövetes tokkal körülvett cisztafal megjelenése jellemezte a lézió centrumában található epitéliummal bélelt ürrel, folyékony vagy félfolyékony bennék maradványaival, esetleg koleszterinkristályokkal. A periapikális (szekunder) abszcesszusra a granulációs szövetben, a forámen apikále körül megjelenő abscedáló régió volt jellemző, amely neutrofil granulociták nagy tömegéből, baktériumokból, nekrotizált szövettörmeléből állt. A léziók polimorfonukleáris (PMN)- és epitel sejt tartalmának vizsgálatára a Yanagisawa által leírt három reprezentatív zóna mindegyikében két-két látóteret értékeltünk. A 20%-nál kevesebb számú PMN sejtet tartalmazó léziókat PMN sejtben szegénynek, míg a 20%-ot elérő PMN sejtarány esetén PMN sejtben gazdagnak tekintettük. Az árkádokban vagy szigeteken megjelenő epitel sejtek esetén a lézió az epitelializált, míg ezen sejtek hiányában a nem epitelializált csoportba került.

5. Szövetminták immunhisztokémiai vizsgálata

A gyorsfagyasztott szövetmintákból 4-6µm vastagságú kriosztát metszeteket készítettünk, amelyeket feldolgozásukig alumínium fóliába csomagoltunk és -20°C-on tároltunk. A jelölés első lépéseként a vizsgálat tárgyát képező molekula ellen termelt, kereskedelmi forgalomban hozzáférhető jelöletlen poliklonális és monoklonális immunsavókat használtunk az aspecifikus kötődés gátlását biztosító közegben, megfelelő

kontrollok alkalmazása mellett. A jelölés a különböző vizsgálat-sorozatok alkalmával az avidin-biotin-peroxidáz komplex (ABC), valamint az alkálikus foszfatáz anti-alkálikus foszfatáz (APAAP) módszerek szerint történt gyári kitek felhasználásával, azok utasításait követve. Haemalaunnal történő háttérfestést követően a keletkezett színreakciókat fénymikroszkóp alatt értékeltük. A morfológiai vizsgálat során az immunhisztokémiai jelölés mellett hematoxylin-eozin, Giemsa és van Gieson festett metszeteket is értékeltünk.

6. Citokinek kvantitatív kimutatása periapikális granuloma minták szövet-homogenizátumából enzim-kötött immunoszorbens esszé (ELISA) módszerrel

A folyékony N₂-ben tárolt szövetmintákat olvadó jég között kiolvastottuk, majd proteáz inhibitor jelenlétében először mechanikusan, majd ultrahangos feltáró segítségével homogenizáltuk. A homogenizátumokat centrifugáltuk, a felülúszót szétosztottuk és meghatározásukig -80°C-on tároltuk. Az IL-6 és a GM-CSF koncentrációt ELISA kitek (R&D Systems, Minneapolis, MN) alkalmazásával határoztuk meg. A citokin koncentrációval arányos optikai denzitást, megfelelő hullámhosszon, a lemezek értékelésére alkalmas fotométerben (Microplate Reader; Molecular Devices, Menlo Park, CA) olvastuk le. A minták IL-6, illetőleg GM-CSF koncentrációját a különböző koncentrációjú standardok optikai denzitás értékeihez illesztett görbe alapján határoztuk meg. A citokin szinteket a minták fehérje koncentrációjára normalizáltuk, amelyeket Lowry módszerével határoztunk meg. Az eredményt [pg IL-6/GM-CSF/g fehérje] mértékegységben fejeztük ki. Az adathalmazok statisztikai eloszlását a Kolmogorov-Szmirnov teszttel ellenőriztük. A normál eloszlású halmazokat a Student féle t-teszttel, a normál eloszlást nem követő halmazokat a Mann-Whitney teszttel vizsgáltuk. A vizsgált halmazok közötti különbséget $p < 0,05$ érték esetén tartottuk szignifikánsnak.

4. Eredmények

1. Az apikális periodontitis hatásának vizsgálata a szervezet egészének állapotára

A szájüreg lokális gyulladásainak és a szervezet egyéb betegségeinek az összefüggése és annak patomechanizmusa hosszú évtizedek óta vitatott, ugyanakkor jelentős gyakorlati fontosságú területe az orvostudománynak. 1997. szeptember 1. és 1998. január 31. között összesen 261, góckutatás céljából beutalt beteg vizsgálatát végeztük el a társklinikák kérésére. A vizsgált betegek közül 216 esetben (83%) diagnosztizáltunk odontogén gócot, míg 45 beteg (17%) stomatológiai státusza odontogén góc negatív volt. A leggyakrabban észlelt odontogén gócként szoba jövő elváltozás 92 esetben (36%) gangréna simplex volt, amelyet a granuloma apikále követett 54 esetben (21%), majd a parodontitisz komplikáta 52 esetben (20%). Inkomplett gyökértömést találtunk 41 beteg vizsgálatakor (10%), impakció dentisz és radix relikta volt a diagnózis 35 esetben (9%), valamint sikertelen gyökértömés 15 alkalommal (4%). A gangréna simplex és az inkomplett gyökértömés eseteiben, összesen 107 esetben (46%) radiológiailag ép periapikális teret diagnosztizáltunk. Ezzel szemben 69 esetben (25%), a „granuloma periapikále” és a „gyökértömés granuloma apikáléval” csoportok minden esetében krónikus apikális periodontitiszre utaló periapikális transzlucenciát találtunk. Figyelemre méltó, hogy az összes vizsgált betegcsoportban magas volt a fogászati gócként számba jövő elváltozások gyakorisága. Az odontogén góc-pozitív betegek aránya 100% volt a beutalt szemészeti betegek, 91% a szívbeteg, 89% a vaszkulitiszes betegek, 74% az autoimmun betegek, 73% az ekcémás betegek, 72% a vesebetegek, 71% a vegyes bőrgyógyászati kórképekben szenvedő betegek csoportjában.

2. A periapikális léziók típusainak prevalenciája

Intézetünkben 1992. és 1997. között 299 periapikális léziót távolítottunk el. A vizsgált szövetek mindegyike a gyulladásos periapikális kórformák valamelyikének bizonyult. Az összes minta 65,2%-a (195 eset) radikuláris ciszta volt, amelyek közül a valódi radikuláris

ciszták epithelium bélése önmagába záródott, a zsák- vagy öbölcsiszták ürege pedig a gyökércsatornával közlekedett. Ezen két ciszta-féleség egymáshoz viszonyított arányát pontosan nem sikerült megállapítanunk, mivel a biztos elkülönítéshez a léziók egészének a gyökércsúccsal egy darabban történő eltávolítása, és e minták sorozat- vagy step-sorozatmetszet vizsgálata lett volna szükséges. A vizsgált anyag 32,1%-a (96 lézió) granuloma apikálénak bizonyult. Az eltávolított krónikus apikális léziók csekély hányada felelt meg reziduális cisztának vagy periapikális (szekunder) abszcessusnak, ezek az összes lézió 2,7%-át (8 minta) tették ki.

3. A periapikális granulomák sejtes összetevőinek kvantitatív meghatározása

A periapikális granulomák sejtes összetevőinek kvantitatív meghatározására a hisztológiai vizsgálattal granulomatózus és granulofibrotikus típusú periapikális granuloma mintákat választottuk. A léziók granulomatózus zónája gazdagon tartalmazott limfocitákat, plazmasejteket, makrofágokat, polimorfonukleáris leukocitákat, kisebb számban habos sejteket, Malassez-féle epitheloid maradványokat, elvértve Russel-testeket, a sejtes elemek jelentős szegregációja nélkül. Esetenként kapilláris, illetőleg epitheliális proliferáció, valamint perivaszkulitisz jeleit észleltük. Az aktivált hám a granulomatózus zónába terjedő keskeny arkádokat, néhol szigeteket alkotott. A granulomatózus zónát tokszerű fibrotikus zóna övezte. Ebben a sejtiszegény zónában a kollagén rostok között kis számban oszteoblasztokat és 10-70 sejtből álló csoportokba rendeződött hízósejteket láttunk. A granulomatózus és fibrotikus zóna átmenetét képező granulofibrotikus övezetben is találtunk néhány kevésbé granulált hízósejtet, de a granulomatózus zóna hízósejtet nem tartalmazott. A sejtfelszíni sejtvonal-specifikus szöveti differenciálódási antigének - CD markerek - kimutatását több sorozatban, fagyasztott metszeteken, CD2-, CD3-, CD4-, CD8-, CD56-, CD14-, CD25- és CD68-ellenes monoklonális antitestekkel végeztük. A reakció pozitivitását gyűrű - (sejtmembrán) - típusú színreakció jelezte. Minden antitesttel történő jelölésből 2-2 metszetet kiválasztva 10-10

random módon választott centrális és perifériás mezőben kapott arányból átlagot számolva kaptuk meg a pozitív sejtek végső arányát.

A T-limfocitákat az egyik vizsgálatsorozatban a CD2+, a másikban a CD3+ sejtek képviselték. A CD2+ és CD3+ T-limfociták képezték a granulomatózus zónát infiltráló sejtek mintegy felét (55%). A CD2+ és CD3+ jelölés eredményei között nem találtunk lényeges eltérést. A CD4+ és CD8+ limfociták összesített előfordulási gyakorisága egyezést mutatott a T-limfociták (CD2+ vagy CD3+) arányával. A lézióban a CD4+ és CD8+ limfociták következetesen egyenletes eloszlásban, döntően a granulomatózus zónában voltak jelen. A CD8+ sejtek előfordulási gyakorisága (34%) kis fokban meghaladta a CD4+ sejtek arányát (22%). Egyenletes eloszlásban, de a T-limfocitáknál jóval ritkábban fordultak elő NK sejtek. Az ugyancsak egyenletes eloszlásban elhelyezkedő makrofágok gyakorisága jellegzetesen különbözött annak függvényében, hogy kimutatásukra CD14 (átlagosan 22%), vagy CD68 (átlagosan 55%) differenciálódási antigén-specifikus monoklonális ellenanyagot használtunk. A léziók granulomatózus zónájában többnyire kerekded, vagy poligonális makrofágok fordultak elő, míg a perifériásabb területekre főleg a dendritikus morfológiájú makrofágok jelenléte volt a jellemző. Az ezeken a sejteken megjelenő, a CD4+ T-limfociták felé történő antigén-prezentációban szerepet játszó, és egyúttal a sejtek aktivált állapotát jelző humán major hisztokompatibilitási komplex II. típusú molekulájának (MHC-II) kimutatását szintén monoklonális antitesttel történő jelöléssel végeztük. A HLA-DR-ellenes monoklonális antitesttel történő jelölést követően az erős festődést mutató makrofágok mellett a limfocita morfológiájú sejtek is jellegzetes sejtmembrán típusú jelölődést mutattak. A HLA-DR antigénhez hasonlóan T-limfocita sejtaktivitási antigénként viselkedő CD25 antigént, az IL-2 receptor α polipeptid láncát (IL-2R α) monoklonális jelölést követően alkalmazott ABC módszerrel mutattuk ki. A CD25 monoklonális antitesttel reagáló sejtek kis limfocita

morfológiájú sejtek voltak, s a limfociták többségén (átlagosan 48%) erős, vagy mérsékelt jelölődést észleltünk.

4. A kemotaktikus citokinek szöveti megjelenésének kimutatása, az aktivált állapotú sejtek vizsgálata apikális periodontitisben

Munkacsoportunk a kemokin család három funkcionális prototípusának sejtes kifejeződését, illetőleg a periapikális granuloma matrixához való kötődését immunhisztokémiai módszerrel mutatta ki. Az IL-8-, MCP-1- és RANTES-ellenes monoklonális antitestekkel való jelölést követően a vizsgált molekulákat APAAP módszerrel vizualizáltuk. Az IL-8-, az MCP-1- és a RANTES jellegzetes mintázatot mutatott. Mindhárom kemokin finom granuláris jelölődés formájában jelent meg a granulomák extracelluláris matrixához kötődve. Ezen felül erős intracitoplazmatikus IL-8 pozitivitást észleltünk a morfológiailag a Malassez-féle epiteliális sejtmaradványoknak megfelelő nagy poligonális sejtekben. Az MCP-1 az extracelluláris matrix negatívan töltött molekuláin kívül kötődött a granulációs szövetet penetráló venulák endotel sejtjeinek felszínéhez is, azok jellegzetes lineáris jelölődését eredményezve. A RANTES esetében nem találtunk sejtrel kapcsolatos kötődést.

5. Interleukin-6 (IL-6) és granulocita monocita- stimuláló faktor (GM-CSF) kvantitatív kimutatása periapikális granuloma minták szövet-homogenizátumából enzim-kötött immunoszorbens esszé (ELISA) módszerrel

Az IL-6 és GM-CSF kvantitatív kimutatását ELISA módszerrel végeztük periapikális léziók homogenizátumából. Megállapítottuk, hogy mind az IL-6 (átlag 236 pg/μg protein), mind a GM-CSF (átlag: 207pg/μg protein) következetesen kimutatható, és a mért koncentráció meghaladja a kontroll szövetként alkalmazott lobmentes pulpa szövet IL-6 (átlag: 9 pg/μg protein) és GM-CSF (átlag: 200pg/μg protein) koncentrációját. A különbség

nem bizonyult statisztikailag szignifikánsnak, mivel az individuális periapikális granuloma homogenizátumok IL-6 és GM-CSF koncentrációi nem követték a normál eloszlást. Jelentős különbség mutatkozott azonban a periradikuláris gyulladás különböző stádiumait reprezentáló altípusok között. Így a klinikailag szimptomás, szöveteileg epitelializált granulomák IL-6 (átlag: 778 pg/μg protein) és GM-CSF (átlag: 363pg/μg protein) koncentrációi szignifikánsan magasabbak ($p<0,05$) voltak, mint az aszimptomás, röntgen filmen 3 mm legnagyobb átmérőt meg nem haladó, szöveteileg nem epitelializált és polimorfonukleáris leukocitákban szegény lézióké (átlag: 45 pg/μg protein és 135 pg/μg protein). Szignifikáns volt a különbség ($p<0,05$) az első csoportba sorolt granuloma homogenizátumok és a kontroll szövet-homogenizátumok között is.

5. Megbeszélés

1. Az utóbbi években a góceredettel összefüggésbe hozott betegségek számának rohamos gyarapodása és a „góckérdés” újbóli fellángolása ismét sürgetővé tette a góc és egy távoli szerv megbetegedése között fennálló patogenetikai kapcsolat tisztázását. Tanulmányunk célja az volt, hogy jól definiált betegcsoportok felállításával megállapítsuk, melyek azok a betegségek, amelyek esetében a leggyakrabban találunk odontogén gócot, és melyek azok a odontogén gócok, amelyek a leggyakrabban diagnosztizálhatók e betegek vizsgálatakor. Retrospektív klinikai tanulmány keretében megállapítottuk, hogy perzisztáló, lokális, krónikus odontogén gyulladás a társszakmák által „góckutatás” céljából stomatológiai szakvizsgálatra beutalt szemészeti-, bőr-, autoimmun-, vese- és szívbetegek többségében (83%) kimutatható. A leggyakrabban odontogén gócként szóbjövő elváltozások a gangréna simplex, granuloma apikále, és a parodontitisz komplikáta volt. Bár az összes vizsgált betegcsoportban magas volt

a fogászati gócként számba jövő elváltozások gyakorisága, ezek közül kiemelkedett három csoport. A vizsgált szemészeti betegek 100%-ában, az ischaemiás szívbetegek 91%-ában, míg a bőrgyógyászati betegek 78%-ában találtunk odontogén gócot. Munkacsoportunk a jövőben gócbetegek utánkötéses vizsgálatát tervezi elvégezni, amelyben a góctalanítást követő gyulladásos vér- és szérumparaméterek változásainak elemzésével a gócfertőzés mechanizmusának jobb megértését kívánjuk elérni. E vizsgálatainkban kiemelt figyelmet szentelünk majd az említett három betegcsoport megfigyelésének.

2. A tanulmányunkban második leggyakrabban előforduló odontogén gócként szóbajövő elváltozás megnevezése, a granuloma apikále nem teljesen pontos, hagyományörző kifejezés. A granuloma apikále helyett egyre inkább elfogadottá válik a krónikus apikális periodontitisz (CAP) klinikai diagnózis. A gyökércsúcs körül kialakult idült lobos lézió hisztológiailag a néhány mm-20mm nagyságot elérő granuloma apikále vagy a néhány mm-25mm méretű radikuláris ciszta is lehet. Ezen kórformák differenciál diagnózisa nem állapítható meg csupán a klinikai és radiológiai tünetek ismeretében. Klinikai elkülönítésüknek gyakorlati jelentősége az alkalmazandó terápia megválasztásában volna, hiszen a gyökércsatornával nem közlekedő hámbéléssel bíró valódi ciszták, s köztük különösen a koleszteatómák képesek a kiváltó októl függetlenül perzisztálni. Rossz gyógyhajlamuk sebészi eltávolítást tesz indokolttá, míg az egyéb krónikus apikális léziók esetében a konzervatív terápia önmagában eredményes lehet. A pontos diagnózist azonban csak a lézió gyökércsúccsal egy darabban történő eltávolításával, majd sorozatmetszéssel lehet megállapítani.

Az elmúlt 40 évben a periapicalis kórformák szövettani kiértékelésével kapcsolatban számos, egymásnak ellentmondó eredmény látott napvilágot. A radikuláris ciszták prevalenciája 6-54% között, míg az apikális granuloma előfordulása 34-94% között ingadozott. Az ellentmondásos adatokat magyarázza, hogy a mintavétel és a szövettani feldolgozás során számos tényező vezethet helytelen szövettani diagnózishoz, valamint, hogy

a vizsgálatok mindegyikét eltérő összetételű populációban végezték. Retrospektív klinikai tanulmány keretében megállapítottuk, hogy az intézetünkben eltávolított periapikális léziók 65,2%-a radikuláris ciszta, 32,1%-a apikális granuloma, 2,7%-a reziduális ciszta, vagy szekunder abszcesszus. Hasonlóan néhány más szerzőhöz, vizsgálatunkban a ciszták magas előfordulási arányát találtuk, az öböl- és valódi ciszták elkülönítésére nem végeztünk sorozat metszet vizsgálatokat. Eredményünk igazolni látszik azt a feltételezést, hogy a valódi ciszták az esetek többségében eltávolításra kerülnek, így az összes periapikális lézió feltételezhetően magas granuloma apikale aránya (90-95%) az eltávolított léziók tekintetében a radikuláris ciszta javára tolódik el.

3. Az egyik leggyakoribb odontogén „góc”-ként felmerülő krónikus apikális periodontitis távoli szerveket megbetegítő képességét nem lehet megítélni a szövetet fölépítő sejtek ismerete nélkül. A lézió domináns immunsejtjei által kiváltott immunreakciók és az immunfolyamatokat kísérő citokintermelődés feltételezhetően nélkülözhetetlenek a tartós irritációt kiváltó kórokozók inváziójának megakadályozásában és a helyi szövetkárosodás fenntartásában is. Vizsgálatunk során bebizonyosodott, hogy a felépítő sejtek között a T limfociták fordulnak elő a leggyakrabban, a sejtek közel 50%-át teszik ki. A T limfocitacsoportot alkotó CD4-pozitív helper/inducer és CD8-pozitív citotoxikus/szupresszor sejtek aránya egészséges körülmények között a perifériás vérben és a nyirokszövetekben 2:1 a CD4-pozitív sejtek javára. A periapikális léziókban ez a sejtarány Stashenko és munkatársainak patkánykísérlete szerint csupán a léző kialakulásának kezdetén figyelhető meg, majd a lézió állandósulásakor megfordul és CD8-pozitív túlsúly alakul ki. A jelenség magyarázata, hogy a lézió kialakulásának kezdetén a behatoló kórokozók eliminálását a szervezet a CD4-pozitív sejtek által irányított immunreakciók segítségével érheti el. A krónikus szakban azonban, miután az irritáció mértéke csökken, a szövetkárosodással is járó heves immunfolyamatok háttérbe szorítását a többségbe kerülő CD8-pozitív sejtek működése

biztosítja. Munkacsoportunk a krónikus léziók sejtes összetételének vizsgálata során az állandósult lézióknak megfelelő CD8-pozitív sejtek túlsúlyát figyelte meg. Vizsgálatunkban megállapítottuk továbbá, hogy jelentős számban vannak jelen a CD14-pozitív makrofág sejtek, míg a CD56-pozitív természetes ölő sejtek arányát alacsonyabbnak találtuk. A lézió helyi és távolhatásának megítélésében a sejtes összetétel mellett további hasznos információt jelent az aktivált állapotú sejtek arányának ismerete, ezért immunhisztokémiai módszerrel vizsgáltuk a sejtek aktivált állapotát jelző molekulák megjelenését a krónikus humán apikális periodontitisz lézió domináns sejtjein, a makrofágokon és a T-limfocitákon. Elsők között írtuk le a HLA-DR molekulák kifejeződését a lézió mononukleáris sejtjein. Elsőként észleltük az IL-2 receptor alfa lánc (IL-2R α vagy CD25) megjelenését a periradikuláris lobos infiltrátum limfocitáin. Az IL-2R α -t kifejező sejtek gyakorisága pozitív visszacsatolási hurok működésére utal a krónikus lézió domináns, IL-2R α -pozitív, de IL-2-t lényeges mennyiségben nem termelő CD8-pozitív szubpopuláció és az IL-2-t termelő, a CD4-pozitív szubpopuláció részét képező Th 1 típusú sejtek között. A CD68-pozitív sejtek magas előfordulási aránya a jelenlévő makrofág sejtek többségének aktivált állapotát jelzi.

4. A periapikális tér gyulladásának kezdetekor a gyökércsatornából beáramló antigének a makrofágok, fibroblasztok, neutrofil granulociták, oszteoklaszt sejtek IL-1 és tumor-nekrózis-faktor-alfa (TNF- α) termelését váltják ki. A korai proinflammatorikus citokinek nem csupán a helyi szövetkárosodás kulcsszereplői, de feltételezhetően stimulálják a kemokinek expresszióját is. A kemokinek, vagy kemotaktikus citokinek döntő szerepet játszanak a krónikus periapikális granuloma sejtes komponenseinek irányított beáramlásában, toborzásában, így jelenlétükkel alapvető hatást fejtenek ki a lobos léziót infiltráló sejtek minőségére és elrendeződésére. Az újabb gyulladásos sejtek megjelenésükkel a citokin molekulák expressziójának kaszkádját és ezzel a helyi gyulladásos folyamat intenzitásának növekedését váltják ki. A kemokinek ilyen módon hozzájárulhatnak a helyi szövetkárosodás

és az esetleg kialakuló távolhatás létrejöttéhez is. Az általunk vizsgált IL-8, MCP-1 és RANTES a kemokinek különböző funkciójú molekulacsoportjainak egy-egy tagját képviselik. Az IL-8 a neutrofil granulociták rekrutálásán kívül az endo- és epitel sejtek proliferációjának stimulálását is kiváltja. Az utóbbi két hatásának köszönhető a Malassez-féle hámsejtek esetleges elszaporodása és a lézió jó vérellátását biztosító véredények angiogén növekedése. A monociták és eozinofil granulociták periapikális lézióban való megjelenéséért az MCP-1, a memória T-sejtek beáramlásáért a RANTES felelhet. A kemotaktikus citokinek, kemokinek kifejeződését és extracelluláris matrix molekulákhoz kapcsolt megjelenését krónikus humán apikális periodontitisz lézióban elsőként vizsgáltuk. RANTES jelenlétét más munkacsoport korábban állatkísérletes periapikális granuloma modellben sem vizsgálta. Az általunk immunhisztokémiai módszerrel vizsgált IL-8, MCP-1 és RANTES jellegzetes és egymástól különböző megjelenési mintázatot mutat a periradikuláris léziót felépítő sejtekben, azok felszínén és az extracelluláris matrixban. A mindhárom kemokin extracelluláris matrixban való megjelenése utalhat szabályozó szerepükre, melyet a lézió leukocita szubpopulációinak elosztásában töltenek be. Bár az IL-8-at és RANTES-t nem tudtuk a véredényekhez kötötten kimutatni, feltételezhetően szintén rendelkeznek - ha nem is állandó - toborzó hatással. Az MCP-1 jelenléte a venulák endotel sejtjeinek felszínén és a környező extracelluláris matrixban helyi koncentrációgradiens meglétére és a leukociták folyamatos rekrutálására utal.

5. A krónikus apikális periodontitisz lézióval bíró betegeket vizsgálva, munkacsoportunk korábbi tanulmányai alapján megállapította, hogy ezen betegcsoport vérérumában a pozitív akut fázis fehérjék szintje emelkedett volt, és ez a szérumszint szignifikánsan csökkent három hónappal a léziók eliminálása után. A reakció kiváltásában oki szerepet játszó korai proinflammatorikus citokinek, mint az interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 (IL-1), vagy a tumor nekrozis faktor (TNF) auto- és parakrin hatásuk mellett hormonszerű távolhatásra is képesek. A véráramba jutva befolyásolják a hepatociták akut-fázis fehérje termelését, melynek

eredményeként láz, fokozott vérsüllyedés alakulhat ki. A korábbi vizsgálatokban a kezelés előtt álló betegek spontán vér kemilumineszcenciája szintén nagyobb volt, mint az egészséges kontroll csoporté, és ezek az értékek 3 hónappal a kezelést követően szignifikáns csökkenést mutattak. A jelenség a betegek perifériás vérében keringő neutrofil granulociták fokozott metabolikus aktivitását jelzi, amelyet okozhatnak a lézióban termelődő növekedési faktorok, így a granulocita- kolóniastimuláló faktor (G-CSF), vagy a granulocita makrofág- kolóniastimuláló faktor GM-CSF. Velük szinergizmusban az IL-6 fokozza a neutrofil leukociták citotoxikus aktivitását és a hematopoezist, ami leukocitózishoz vezet. Feltételezéseink igazolására elsőként határoztuk meg a krónikus humán apikális periodontitisz lézióból készített szövethomogenizátum IL-6 és GM-CSF koncentrációját. A GM-CSF kifejeződését periradikuláris léziókban más munkacsoport még nem vizsgálta. Megállapítottuk, hogy a klinikailag aktív, szimptómás, epitelializált és nagy méretű elváltozások IL-6 és GM-CSF szöveti koncentrációja szignifikánsan nagyobb, mint a kontrollszövetként vizsgált lobmentes pulpaszövet, illetőleg a klinikailag inaktív, aszimptómás, nem epitelializált, kevés polimorfonukleáris leukocitát tartalmazó, kis méretű periapikális prnuloma szövet-homogenizátumoké. Eredményeink szerint a periradikuláris betegség aktív stádiumában a jelentős helyi IL-6 és GM-CSF produkció hozzájárulhat a lézió sejtes összetételének kialakulásához, az alkotó sejtek aktivált állapotba kerüléséhez és ilyen módon a folyamat szövetdestrukcióval járó progressziójához. A lokálisan termelődő IL-6 és GM-CSF nemcsak az infiltráló sejtek kölcsönhatásait közvetítheti, hanem a véráramba jutva távoli sejtek, szövetek működését is befolyásolhatja.

6. Új megállapítások

1. Retrospektív klinikai tanulmány keretében megállapítottuk, hogy a társszakmák által góckutatás céljából beutalt betegek többsége rendelkezik kimutatható perzisztáló krónikus szájüregi gyulladással (83%). A leggyakrabban odontogén gócként szóbajövő elváltozások a gangréna simplex, granuloma apikále és a parodontitisz komplikáta volt.

2. Retrospektív klinikai tanulmány keretében megállapítottuk, hogy az intézetben eltávolításra került periapikális léziók többsége, 65.2%-a radikuláris ciszta. Eredményünk igazolni látszik azt a feltételezést, hogy a valódi ciszták az esetek többségében eltávolításra kerülnek, így az összes periapikális lézió feltételezhetően magas granuloma apikále aránya (90-95%) az eltávolított léziók tekintetében a radikuláris ciszta javára tolódik el.

3. Immunhisztokémiai módszerrel vizsgáltuk a granulomatózus és granulofibrotikus típusú humán periapikális léziók sejtes összetételét. Elsők között állapítottuk meg, hogy a felépítő sejtek között a T-limfociták és a makrofágok fordulnak elő a leggyakrabban. A T-limfociták között a CD8-pozitív citotoxikus/szupresszor sejtek aránya meghaladta a CD4-pozitív helper/inducer sejtekét. Immunhisztokémiai módszerrel vizsgáltuk a sejtek aktivált állapotát jelző molekulák megjelenését a krónikus humán apikális periodontitisz lézió domináns sejtjein, a makrofágokon és a T-limfocitákon. Elsők között írtuk le a HLA-DR molekulák kifejeződését a lézió mononukleáris sejtjein. Elsőként észleltük az IL-2 receptor alfa lánc (IL-2R α vagy CD25) megjelenését a periradikuláris lobos infiltrátum limfocitáin.

4. Elsőként vizsgáltuk a helyi szövetkárosodás és az esetleg kialakuló távolhatás létrejöttéhez is hozzájáruló kemokinek szöveti megjelenési mintázatát krónikus humán periapikális lézióban. RANTES jelenlétét más munkacsoport korábban állatkísérletes periapikális granuloma modellben sem vizsgálta. Megállapítottuk, hogy az általunk

immunhisztokémiai módszerrel vizsgált IL-8, MCP-1 és RANTES jellegzetes és egymástól különböző megjelenési mintázatot mutat a periradikuláris léziót felépítő sejtekben, azok felszínén és az extracelluláris matrixban.

5. Elsőként határoztuk meg a krónikus humán apikális periodontitisz lézióból készített szövethomogenizátum IL-6 és GM-CSF koncentrációját. A GM-CSF kifejeződését periradikuláris léziókban más munkacsoport még nem vizsgálta. Megállapítottuk, hogy a klinikailag aktív, szimptomás, epitelializált és nagy méretű elváltozások IL-6 és GM-CSF szöveti koncentrációja szignifikánsan nagyobb, mint a kontrollszövetként vizsgált lobmentes pulpaszövet, illetőleg a klinikailag inaktív, aszimptomás, nem epitelializált, kevés polimorfonukleáris leukocitát tartalmazó, kis méretű periapikális prauloma szövet-homogenizátumoké.

8. Az eredmények hasznosítása

1. A góckutatással kapcsolatos vizsgálatunk eredményeit a témával kapcsolatos jövőbeli kutatómunkánk tervezésekor kívánjuk felhasználni, így ezek közvetve segítenek közelebb jutni a gócfertőzés mechanizmusának jobb megértéséhez és ezen keresztül a hatékonyabb terápiás megközelítéshez.
2. Hisztológiai vizsgálatunk eredménye felhívja a figyelmet arra a tényre, hogy a periapikális léziók 10-15%-a a *lege artis* végzett endodonciai beavatkozás ellenére sem gyógyul, ezért még nagyobb hangsúlyt kell fektetnünk az ellenőrző vizsgálatok végzésére.
3. A krónikus humán apikális periodontitisz sejtes összetevőinek, az aktivált sejtek arányának vizsgálatával nyert új eredményeink alapvetően befolyásolták terápiás szemléletünket. Minthogy eredményeink megerősítették azt a megállapítást, amely szerint a periapikális tér krónikus gyulladásai következményes kórformák, a korszerű oki terápia célja a fertőzés minél hatékonyabb felszámolása, majd a szájüreg felőli reinfekció kivédésére hermetikusan záró gyökértömés készítésével.

A krónikus humán apikális periodontitisz szisztémás hatásának kimutatása szintén föl hívja a figyelmet az endodonciai kezelésen átesett fogak ellenőrzésének szükségességére, valamint arra, hogy az alkalmazandó terápia megválasztásakor figyelembe kell vennünk a beteg általános állapotát is. Egészséges, jó immunitású egyének esetében a periapikális lézió korszerű konzervatív kezelését kell előnyben részesítenünk. Sérült immunitású és egyes súlyos szervi elváltozással terhelt betegek esetében is helye lehet a konzervatív endodonciai beavatkozásnak, de szükség van az alapbetegséget kezelő orvossal történő folyamatos konzultációra, és a terápiát követő gyakoribb klinikai és radiológiai ellenőrzések elvégzésére.

9. Publikációk jegyzéke

9.1. Az értekezés alapjául szolgáló publikációk

IF*

1. Marton IJ, Dezső B, **Radics T**, Kiss Cs: Distribution of interleukin-2 receptor α -chain and cells expressing major histocompatibility complex class II antigen in chronic human periapical lesions
Oral Microbiol Immunol 13:259-262, 1998. **IF: 1.347**

2. Márton Ildikó, Bágyi Kinga, **Radics Tünde** és Kiss Csongor: Az apicalis periodontis kialakulása és szervezetre gyakorolt hatása
Fogorv Szle 91:269-274, 1998.

3. Tar Ildikó, Bágyi Kinga, **Radics Tünde**, Márton Ildikó: Odontogén gócszűrésre beutalt betegek vizsgálata
Fogorv Szle 92:295-300. 1999.

4. Márton Ildikó, **Radics Tünde**, Szakáll Szabolcs és Kiss Csongor: A sejtes összetétel, az aktivált állapotú sejtek vizsgálata granuloma apicaleban
Fogorv Szle 92:379-385, 1999.

5. **Radics Tünde**, Tar Ildikó, Bágyi Kinga, Márton Ildikó: A periapicalis laesiók típusainak prevalenciája, a szövettani értékelés jelentősége
Fogorv Szle 93:108-114, 1999.

6. Marton IJ, Rot A, Schwarzingen E, Szakáll S, **Radics T**, Vályi-Nagy I, Kiss C: Differential in situ distribution of IL-8, MCP-1 and Rantes in human chronic periapical granuloma
Oral Microbiol Immunol 15:63-65, 2000. **IF: 1.419**

7. **Radics Tünde**: Gondolatok az apicalis periodontitis korszerű kezeléséről
Magyar Fogorvos 5:254-255, 2002.

8. **Radics T**, Kiss C, Tar I., Marton IJ: Interleukin-6 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in apical periodontitis: correlation with clinical and histologic findings of the involved teeth
Oral Microbiol Immunol 18:9-13, 2003. **IF: 1.081**

9.2. Lektorált folyóiratokban megjelent citálható kongresszusi absztraktok jegyzéke

1. Márton I.J , Rot A, **Radics T**, Vályi-Nagy I ,Kiss C: Expression of chemokine family of inflammatory cytokines in chronic apical periodontitis
Int Endod J 31:205, 1988. **IF: 0.718**
2. **Radics T**, Tar I, Márton I: Types and prevalence of human periapical lesions, significance of histological evaluation
Int Endod J 33: 163, 2000. **IF: 0.933**
3. Tar I, **Radics T**, Márton IJ: Screening of chronic inflammatory dental disorders in focal diseases
Int Endod J 33: 167, 2000. **IF: 0.933**
4. **Radics T**, Tar I, Kiss C, Márton IJ: Interleukin-6 and GM-CSF in apical periodontitis: correlation between clinical and histological findings
Int Endod J 35: 117, 2002. **IF: 0.933**

IF= impakt faktor a megjelenés éve szerint

9.3. Az összefoglalással kapcsolatban elhangzott előadások (poszterek)

1. 1997. október 8-10. Szeged MIT
Interleukin-2 receptor alfa lánc és HLA-DR antigén expresszáló sejtek szöveti megoszlása chronicus humán granuloma apicaleban
2. 1998. augusztus 25-29. Budapest Magyar Fogorvosok XV. Jubileumi „Árkövy” kongresszusa '98
Periapicalis elváltozások szövettani értékelése
Bágyi K.¹, Radics T.¹, Redl P.¹, Szilágyi Z.², Póti S.¹, Szilágyi Zs.¹, Kovács Gy.¹, Szakáll Sz.², Márton I.¹,
Restauratív Fogászati Tanszék, Stomatológiai Klinika¹, Patológiai Intézet², DOTE, Debrecen, Magyarország
3. 1998. augusztus 25-29. Budapest Magyar Fogorvosok XV. Jubileumi „Árkövy” kongresszusa '98
Interleukin-2 receptor α -láncot és HLA-DR antigént expresszáló aktivált állapotú sejtek arányának vizsgálata chronicus apicalis periodontitisben
Radics T.¹, Dezső B.², Kiss Cs.³, Márton I.¹
Restauratív Fogászati tanszék, Stomatológiai Klinika¹, Patológiai Intézet², Gyermekklinika³, DOTE, Debrecen, Magyarország
4. 1998. augusztus 25-29. Budapest Magyar Fogorvosok XV. Jubileumi „Árkövy” kongresszusa '98
Gócfertőzés gyanúja miatt a DOTE Stomatológiai Klinikán kivizsgált betegek adatainak összesítése
Tar I., Radics T., Bágyi K., Mátrón I.

Restauratív Fogászati Tanszék, DOTE Stomatológiai Klinika, DOTE, Debrecen, Magyarország

5. 1998. szeptember 30. Harkány, MIT
A kemotaktikus citokinek expressziójának vizsgálata granuloma apicaleban
Radics T.¹, Rot A.², Kiss C.³, Marton I. J.¹
DOTE, Restauratív Fogászati Tanszék, Stomatológiai Klinika, Debrecen¹, Novartis Research Institute, Vienna, Ausztria², DOTE Gyermekgyógyászati Klinika, Debrecen³
6. 1998. szeptember 30. Harkány, MIT
Feltételezeten góceredetű betegségek és a fogászati gócok összefüggéseinek vizsgálata I rész: első gócszűrő vizsgálatok eredményeinek összesítése
Tar I., Radics T., Bágyi K., Márton I.
DOTE Stomatológiai Klinika, Debrecen
7. 1999. október 7-9. Zágráb, Horvátország, The 9th Biennial Congress of the European Society of Endodontology
Types and prevalence of human periapical lesions, significance of histological evaluation
Radics T, Tar I, Márton I.
Department of Stomatology, University Medical School of Debrecen, Hungary
8. 1999. október 7-9. Zágráb, Horvátország, The 9th Biennial Congress of the European Society of Endodontology
Screening of chronic inflammatory dental disorders in focal diseases
Tar I, Radics T, Márton I.
Department of Stomatology, University Medical School of Debrecen, Hungary
9. 1999. október 7-9. Zágráb, Horvátország, The 9th Biennial Congress of the European Society of Endodontology
Apical periodontitis- a delicate equilibrium between oral microbiota and the host immune system
Marton IJ^{*}, Radics T^{*}, Tar I^{*}, Kiss C^{**}.
Department of Stomatology^{*} and Department of Pediatrics^{**}, University Medical School of Debrecen, Hungary
10. 2001. május 4-5. Szeged 2001. Tudományos Továbbképző Konferencia és Fogorvostalálkozó
Interleukin-6 és GM-CSF jelenléte apicalis periodontitisben a klinikai tünetek tükrében
Radics T^{*}, Tar I^{*}, Kiss Cs^{**}, Márton I^{*}.
DE OEC Fogorvostudományi Intézet, Konzerváló Fogászati Tanszék, Debrecen^{*}, DE OEC Gyermekklinika, Debrecen^{**}
11. 2001. május 4-5. Szeged 2001. Tudományos Továbbképző Konferencia és Fogorvostalálkozó
A DOTE Stomatológiai Klinikáján az elmúlt 5 évben végzett gócszűrő vizsgálatok eredményei és tanulságai
Martos R, Radics T, Tar I, Bágyi K, Márton I.
DE OEC Fogorvostudományi Intézet, Konzerváló Fogászati Tanszék, Debrecen

12. 2001. augusztus 23-26. Debrecen . Az MFE Fogpótlástani Társaságának XIV. a Magyar Fogorvosok Implantológiai Társaságának IV., és a Magyar Parodontológiai Társaság XII. Kongresszusa
Interleukin-6 és GM-CSF jelenléte apicalis periodontitisben a klinikai tünetek tükrében
Radics T*, Tar I*, Kiss Cs**, Márton I*.
DE OEC Fogorvostudományi Intézet, Konzerváló Fogászati Tanszék, Debrecen*, DE OEC Gyermekklinika, Debrecen**
13. 2001. október 4-6. München, Németország, The 10th Biennial Congress of the European Society of Endodontology
Interleukin-6 and GM-CSF in apical periodontitis: correlation between clinical and histological findings
Radics T, Tar I, Kiss Cs, Márton I.
Department of Restorative Dentistry and Department of Pediatrics, University Medical School of Debrecen, Hungary
14. 2002. október 1-5. Bécs, Ausztria, FDI Árkövy Kongresszus
A citokinek szerepe apicális periodontitisben
Radics T., Márton I.
DEOEC Fogorvostudományi Intézet

9.4. Egyéb közlemény

1. Fogorvosi Szemle, 90. 131-135. 1997.
Egy amegakaryocytás thrombocytás purpurához társult zománcfejlődési rendellenesség esete
Dr. Alberth Márta¹, Dr. Nemes Judit¹, Dr. Radics Tünde¹ és Dr. Kiss Csongor²
DOTE Stomatológiai Klinika, Debrecen¹
DOTE Gyermekklinika, Debrecen²

9.5. Egyéb előadások (poszterek)

1. 1994. május 08. Szeged Tudományos Továbbképző Konferencia
Parodontológiai betegek protetikai ellátásának speciális szempontjai
Tar I. Radics T.
DOTE Stomatológiai Klinika
2. 1995. május 6. Szeged Fogorvos Továbbképzés'95
A szubtotális foghiányok pótlása overdenture-rel
Radics T.
DOTE Stomatológiai Klinika, Debrecen
3. 1995. október 10. Sopron Fogpótlástani Vádorgyűlés
Chronicus immun thrombocytopeniás purpurában szenvedő gyermek rehabilitációja
Radics T., Nemes J., Alberth M.
DOTE Stomatológiai Klinika, Debrecen

4. 1996. május 4. Szeged Tudományos Továbbképző Konferencia
Chronicus immun thrombocytopéniás purpurában (ITP) szenvedő gyermek
rehabilitációja
Radics T., Nemes J., Alberth M.
DOTE Stomatológiai Klinika, Debrecen