

Стоматолошки факултет – Београд
Клиника за болести зуба
Институт за биолошка истражувања

УТИЦАЈ ДЕНТАЛНИХ ПЛАКА НА ИМУНОРЕГУЛАТОРНЕ ФУНКЦИЈЕ МАКРОФАГА

Лукић Александра, Снежана Седлецки и Зорица Рамић

Проучавана је улога макрофага денталних плака у пролиферативном одговору Т-Ћелија према РАА ConA. Нађено је да преинкубација макрофага у хомогенату денталних плака у трајању од 1-3 д знатно повећава ефект пролиферације Т-лимфоцита in vitro. Закључено је да денталне плаке повећавају продукцију лимфостимулаторних молекула као што је Interleucin 1. Разгледан је значај активације макрофага плаке за патогенезу денталног каријеса и имунолошког феномена у пародонцијуму.

Експериментална и клиничка испитивања указују да имуни одговор према антигенима денталних плака има изузетан значај у етиопатогенези обољења пародонцијума и денталног каријеса. Антигени плака могу да изазову у организму хуморални и целуларни имуни одговор. Хуморални имуни одговор се манифестује појавом специфичних серумских (IgM, IgG) и саливарних (IgA) антитела а целуларни имуни одговор пролиферацијом антиген-специфичних Т лимфоцита и појавом реакција касне преосетљивости према антигенима плака. Поред тога, кариогени микроорганизми и њихови продукти присутни у плакама могу активирати макрофаге, стимулирати фагоцитозу и ослобађање лизозомалних ензима што има значаја за развој гингивита, запаљења пародонцијума и настанак каријеса (1). Улога макрофага у запаљењима меких ткива и настанку каријеса није сведена само на механизме наспецифичне одбране. Макрофаги имају такође битну улогу и у специфичном имуном одговору и то како у иницијалној фази „презентације“ антигена плака имунокомпетентним лимфоцитима, тако и у ефекторној фази испољавања ћелијске имуности (2). У иницијалној фази макрофаги су неопходни за активацију помажућих Т лимфоцита па према томе и за хуморални и за целуларни имуни одговор на антигене денталних плака, посебно за имуни одговор на кариогене стрептококе (3).

In vitro пролиферативни одговор Т лимфоцита на стимулацију неспецифичним стимулаторима – митогенима је одличан модел за изучавање имунорегулаторних ефеката макрофага. Са друге стране, Ivanji i Lehner (4) су показали да је пролиферативни одговор на антигене денталних плака пропорционалан in vivo имуном одговору према овим антигенима.

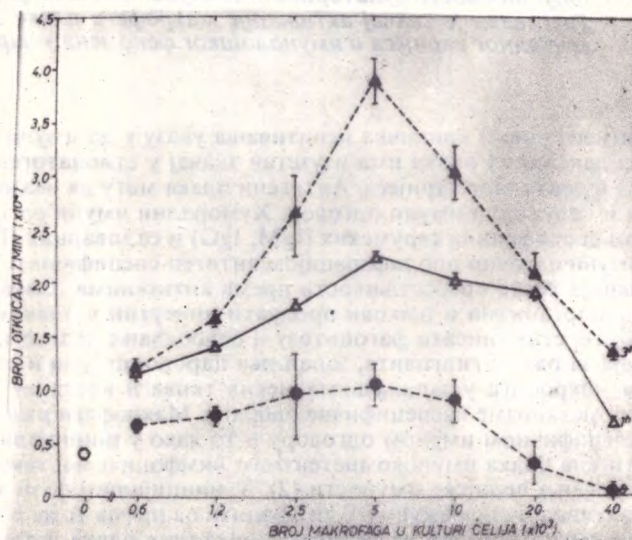
Имајући у воду ове предходне резултате испитивали смо, у експериментима приказаним у овом раду, ефекте денталних плака на функције макрофага у пролиферативном одговору Т лимфоцита на стимулацију митогенима.

Материјал и методе

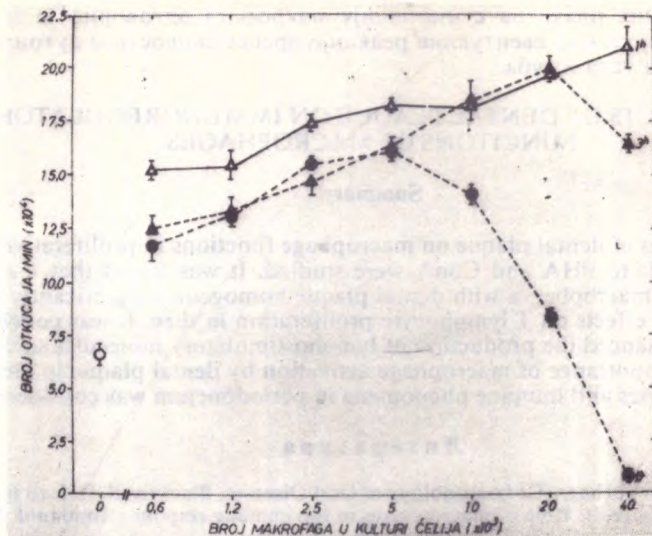
Денталне плаке, узимане од пацијената стерилном сондом и стављане у физиолошки раствор, су чуване на -70°C , потом су лиофилизоване, стерилисане зрачењем (10000 рада) и хомогенизоване ултразвуком. Суспензије пречишћених Т лимфоцита добијене су из тимуса на сепарационој колони по Julius-у и сар. (5) а макрофаги из перитонеалног испирка Albino Oxford лацова. Макрофаги су култивисани 1 или 3 часа са хомогенатом денталних плака а затим прани центрифугирањем у хранљивом медијуму. Растући број макрофага (како је то приказано у резултатима) је додаван микроккултурама пречишћених Т ћелија које су стимулисане Т ћелијским митогенима: 128 микрограма/ml фитохемаглутинаина (PHA) или 2,5 микрограма/ml конканавалина А (ConA). У ове културе ћелија је после 48 часова додавано по 1 микро Ci ^3H -тимидина, а 18 часова потом мерен је пролиферативни одговор у сцинтилационом бројачу.

Резултати

Утицај инкубације макрофага са антигенима денталних плака на њихове имуномодулаторне ефекте у пролиферацији Т лимфоцита на фитохемаглутинаин (PHA) приказан је на слици 1. Додавање макрофага у културу Т лимфоцита доводи до појачања пролиферативног одговора на PHA. То повећање је максимално ако се у културу 1×10^6 Т лимфоцита дода 5×10^3 макрофага. Ако се, међутим, пре додавања култури Т ћелија, макрофаги инкубирају 1 или 3 часа са хомогенатом денталних плака њихов стимулаторни ефекат се значајно појачава. Опти-



Слика 1. Ефекат преинкубације са денталним плакама на имунорегулаторне функције макрофага у одговору Т лимфоцита на фитохемаглутинаин (PHA). Пролиферативни одговор култура 1×10^6 Т лимфоцита после додавања различитог броја макрофага који су предходно инкубирани у медијуму (●); 1 час са хомогенатом денталних плака (Δ); 3 часа са хомогенатом денталних плака (▲).



Слика 2. Ефекат преинкубације са денталним плакама на имунорегулаторне функције макрофага у одговору Т лимфоцита на конканавалин А (ConA). Пролиферативни одговор култура 1×10^6 Т лимфоцита после додавања различитог броја макрофага који су предходно инкубирани у медијуму (●); 1 час са хомогенатом денталних плака (Δ); 3 часа са хомогенатом денталних плака (▲).

мални одговор је добијен при додавању истог броја макрофага (5×10^3) али је степен пролиферације знатно већи него у контролној групи. Разлике у максималном пролиферативном одговору између контролне и експерименталних група су статистички високо значајне ($p < 0.001$).

Слично као у експериментима са РНА, додавање макрофага доводи до стимулације пролиферативног одговора и на ConA (слика 2). Стимулација је зависна од броја додатих макрофага и највећа је ако је у културу Т лимфоцита дато 5×10^3 макрофага. Веће дозе имају супресивни ефекат. Међутим, ако су макрофаги пре додавања култури Т лимфоцита инкубирани са хомогенатом денталних плака 1 или 3 часа добијају се битно другачији ефекти: а) степен пролиферације је увек већи ако је коришћен исти број макрофага стимулираних денталним плакама и б) губи се супресивни ефекат супраоптималног броја макрофага.

Дискусија и закључак

Ефекат денталних плака на имунолошку реактивност је вишеструк.

(1). Показано је да су неки елементи плака директно митогени за В лимфоците (LPS, левани, декстриани). Са друге стране, њихов ефекат на пролиферацију Т ћелија могао би бити директан или посредован макрофагима (2). Ова испитивања показују да су денталне плаке изузетан стимулатор функција макрофага у пролиферативном одговору Т лимфоцита. Показано је већ да денталне плаке активирају ензимску активност макрофага, посебно продукцију лизозомалних хидролаза (1). Наша истраживања показују да плаке стимулишу и продукцију солубилних фактора, вероватно Интерлеукина 1 и 2, којима се данас придаје највећи значај у активацији Т лимфоцита (2) како у механизмима одбране, тако и реакцијама преосетљивости и аутоимуним процесима. Могуће је претпоставити да денталне плаке, као егзогени фактор, доводе до активације макрофага у гингиви и зубним ткивима. Даља истраживања треба да покажу у којој је мери ова ак-

тивност денталних плака на стимулацију макрофага одговорна за механизме заштите од каријеса или евентуалне реакције преосетљивости и аутоимуне процесе у болестима уста и зуба.

THE EFFECTS OF DENTAL PLAQUE ON IMMUNOREGULATORY FUNCTIONS OF MACROPHAGES

Summary

The effects of dental plaque on macrophage functions in proliferative response of purified T cells to PHA and ConA were studied. It was found that 1 or 3 hours preincubation of macrophages with dental plaque homogenate significantly increased their potentiating effects on T lymphocyte proliferation *in vitro*. It was concluded that dental plaque enhanced the production of lymphostimulatory molecules such as Interleukin 1. The importance of macrophage activation by dental plaque in the pathogenesis of dental caries and immune phenomena in periodontium was considered.

Литература

1. Roit, J. m., Lehner, T.: Immunology of Oral Diseases, Blackwell, Oxford p. 323, 1980.
2. Möller, E. (ed.): Role of macrophages in the immune response, Immunol. Rev., 40:1, 1978.
3. Lamb, J. R., Landers, E. D., Konanen, S. and Lehner, T.: Regulation and specificity of the immune response to an oral Streptococcus mutans antigen by T-cell helper and suppressor factors and B-cell antibodies, Archs oral Biol., 26:745, 1981.
4. Ivanyi, L. And Lehner, T: The relationship between caries index and stimulation of lymphocytes by Streptococcus mutans in mothers and their neonates, Archs oral Biol. 23:851, 1978.
5. Julius, H. M., Simpson, E. and Herzenberg, A.L.: A rapid method for the isolation of functional thymus-derived murine lymphocytes, Eur. J. Immunol., 3:645, 1973.