

**GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY**

*Dorota Renkielska*

*Komórki tuczne w przewlekłych zmianach  
okołowierzchołkowych szczęk*

---

*Gdańsk 2014*

*Katedra i Klinika Chirurgii Szczękowo-Twarzowej  
i Stomatologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego*

***Promotor***  
*Prof. dr hab. Adam Włodarkiewicz*

*Serdecznie dziękuję mojemu Promotorowi, Panu Profesorowi Adamowi Włodarkiewiczowi, za pomoc, wsparcie i wielką życzliwość.*

*Serdecznie dziękuję Panu Profesorowi Wojciechowi Biernatowi, Kierownikowi Katedry i Zakładu Patomorfologii GUMed za życzliwość i możliwość przeprowadzenia badań.*

*Dziękuję całemu zespołowi Katedry i Zakładu Patomorfologii GUMed a w szczególności Doktorowi Piotrowi Czapiewskiemu za pomoc w realizacji badań.*

*Dziękuję moim Najbliższym, ukochanej Mamie i ukochanemu Piotrowi za nieocenioną pomoc, wsparcie i cierpliwość.*

*Pracę tę dedykuję moim Rodzicom.*



## SPIS TREŚCI

|  |    |
|--|----|
| WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W PRACY .....                                | 7  |
| 1 WSTĘP.....   | 9  |
| 1.1 Dane dotyczące budowy i fizjologii przyzębia.....                  | 9  |
| 1.1.1 Dziąsło.....   | 9  |
| 1.1.2 Ozębna.....  | 9  |
| 1.1.3 Cement korzeniowy.....   | 10 |
| 1.1.4 Kość wyrostka zębodołowego .....                                 | 11 |
| 1.2 Procesy zapalne przyzębia okołowierzchołkowego. ....               | 11 |
| 1.2.1 Definicja procesu zapalnego.....                                 | 11 |
| 1.2.2 Podział zapaleń okołowierzchołkowych.....                        | 13 |
| 1.2.3 Niszczenie kości w zapaleniach<br>okołowierzchołkowych.....      | 18 |
| 1.2.4 Powstawanie ziarniniaków i torbieli.....                         | 19 |
| 1.3 Komórki tuczne .....   | 21 |
| 1.3.1 Mediatorzy mastocytów .....                                      | 23 |
| 1.3.2 Aktywacja mastocytów.....  | 24 |
| 1.3.3 Obrona organizmu .....   | 25 |
| 1.3.4 Komórki tuczne a przewlekłe zapalenia<br>okołowierzchołkowe..... | 26 |
| 2 CELE PRACY.....  | 28 |
| 3 MATERIAŁ I METODY .....  | 29 |
| 3.1 Badania laboratoryjne.....   | 29 |
| 3.1.1 Przygotowanie materiału do badań<br>laboratoryjnych.....         | 29 |
| 3.1.2 Barwienie histochemiczne metodą Giemsy.....                      | 29 |
| 3.1.3 Barwienie immunohistochemiczne przeciwciałem<br>CD 117.....      | 30 |
| 3.2 Ocena mikroskopowa .....   | 31 |
| 3.3 Analiza statystyczna .....   | 33 |
| 4 WYNIKI.....  | 34 |
| 4.1 Analiza ogólna.....  | 34 |

---

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 4.2   | Analiza wyników uzyskanych w torbielach zapalnych zębopochodnych .....              | 34 |
| 4.2.1 | Analiza wyników uzyskanych w hot spotach w barwieniu Giemsy .....                   | 34 |
| 4.2.2 | Analiza wyników uzyskanych w hot spotach w barwieniu przeciwciałem CD117 .....      | 37 |
| 4.2.3 | Analiza wyników uzyskanych w polach widzenia w barwieniu Giemsy .....               | 41 |
| 4.2.4 | Analiza wyników uzyskanych w polach widzenia w barwieniu przeciwciałem CD 117 ..... | 41 |
| 4.3   | Analiza wyników uzyskanych w ziarninach zapalnych .....                             | 42 |
| 4.3.1 | Analiza wyników uzyskanych w hot spotach w barwieniu Giemsy .....                   | 42 |
| 4.3.2 | Analiza wyników uzyskanych w hot spotach w barwieniu przeciwciałem CD117 .....      | 44 |
| 4.3.3 | Analiza wyników uzyskanych w polach widzenia w barwieniu Giemsy .....               | 45 |
| 4.3.4 | Analiza wyników uzyskanych w polach widzenia w barwieniu przeciwciałem CD 117 ..... | 46 |
| 5     | DYSKUSJA .....  | 53 |
| 5.1   | Porównanie wyników badań własnych z badaniami innych autorów .....                  | 53 |
| 5.2   | Rola mastocytów w przewlekłych zapaleniach okołowierzchołkowych szczęk .....        | 56 |
| 5.2.1 | Mastocyty a niszczenie tkanek okołowierzchołkowych .....                            | 58 |
| 5.2.2 | Komórki tuczne a gojenie tkanek okołowierzchołkowych .....                          | 59 |
| 5.2.3 | Mastocyty a inne komórki obecne w przewlekłych zmianach okołowierzchołkowych .....  | 61 |
| 6     | WNIOSKI .....   | 65 |
| 7     | PIŚMIENNICTWO .....   | 66 |
| 8     | STRESZCZENIE .....  | 79 |
| 9     | SUMMARY .....   | 81 |

---

## WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W PRACY

|               |   |
|---------------|---|
| <b>CRP</b>    | <i>c-reactive protein</i> / białko c-reaktywne  |
| <b>TNF</b>    | <i>tumor necrosis factor</i> / czynnik martwicy guza  |
| <b>IL</b>     | interleukina  |
| <b>LPS</b>    | lipopolisacharyd  |
| <b>Ig</b>     | immunoglobulina   |
| <b>PMN</b>    | <i>polymorphonuclear leucocytes</i> / leukocyty o polimorficznym jądrze   |
| <b>MMP</b>    | metaloproteinaza  |
| <b>PGD</b>    | prostaglandyna  |
| <b>OPG</b>    | osteoprotegeryna  |
| <b>NK</b>     | <i>natural killer</i>   |
| <b>PAF</b>    | <i>platelet activating factor</i> / czynnik aktywujący płytki krwi  |
| <b>FGF</b>    | <i>fibroblast growth factor</i> / czynnik aktywujący wzrost fibroblastów  |
| <b>VEGF</b>   | <i>vascular endothelial growth factor</i> / czynnik wzrostu śródbłónka naczyń   |
| <b>TGF</b>    | <i>transforming growth factor</i> / transformujący czynnik wzrostu  |
| <b>NGF</b>    | <i>nerv growth factor</i> / czynnik wzrostu nerwów  |
| <b>LT</b>     | leukotrien  |
| <b>TXA</b>    | tromboksan  |
| <b>GMCSF</b>  | <i>granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i> / czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów |
| <b>INF</b>    | interferon  |
| <b>PDGF</b>   | <i>platelet derived growth factor</i> / płytkopochodny czynnik wzrostu  |
| <b>SCF</b>    | <i>stem cell factor</i> / czynnik komórek macierzystych   |
| <b>MIP</b>    | <i>macrophage inflammatory protein</i> / białko zapalne makrofagów  |
| <b>MCP</b>    | <i>monocyte chemoattractant protein</i> / białko chemoatraktantowe monocytów)   |
| <b>RANTES</b> | <i>regulated on activation, normal T-cell expresses and secreted</i>  |
| <b>PGN</b>    | peptydoglikan   |
| <b>HSP</b>    | <i>heat-shock protein</i> / białka szoku termicznego  |
| <b>TLR</b>    | <i>toll-like receptor</i>   |
| <b>PAMP</b>   | <i>pathogen associated molecular patterns</i> / molekularne wzorce związane z patogenami                                  |
| <b>CRAMP</b>  | <i>cathelin-related antimicrobial peptide</i>   |
| <b>RNA</b>    | kwas rybonukleinowy   |
| <b>GASC</b>   | <i>granule associated stem cell factor</i> / związany z ziarnistościami czynnik komórek macierzystych                     |
| <b>HS</b>     | <i>hot spot</i>   |
| <b>G</b>      | barwienie metodą Giemsy   |

**Maks.**      maksimum  
**Min.**      minimum



## 1. WSTĘP

### 1.1 Dane dotyczące budowy i fizjologii przyzębia

Ząb w prawidłowych warunkach osadzony jest w zespole struktur noszących nazwę przyzębia. W skład przyzębia wchodzi dziąsło, ozębna, kość wyrostka zębodołowego oraz cement korzeniowy [13].

#### 1.1.1 Dziąsło

Dziąsło (*gingiva*) można podzielić na wolne (brzeżne) oraz przyczepione (zębodołowe). Dziąsło wolne nie jest związane ani z kością, ani z zębem. Stanowi swego rodzaju zabezpieczenie zęba otaczając go w okolicy jego szyjki. Na granicy dna rowka dziąsłowego przechodzi w dziąsło zębodołowe. To z kolei dziąsło rozciąga się wzdłuż kości wyrostka zębodołowego, przechodząc następnie w błonę śluzową na wysokości dna/sklepienia przedsionka jamy ustnej. Rowek dziąsłowy to szczelina szerokości 0,5-1,5 mm między dziąsłem wolnym a szyjką zęba. Wyściela go nabłonek rowkowy, łączący się w dnie rowka z nierogowacjącym przyczepem nabłonkowym, a na brzegu dziąsła wolnego – z nabłonkiem rogowacjącym. Przyczep nabłonkowy – ważna struktura w patologii i fizjologii dziąsła – to przedłużenie nabłonka rowkowego (długość 1 mm) w jego wierzchołkowej części i jest to miejsce, w którym oszkliwie wyrzynającego się zęba łączy się z nabłonkiem dziąsła [54].

#### 1.1.2 Ozębna

Ozębna (*periodontium*) zbudowana jest z dwóch rodzajów tkanki łącznej: upostaciowanej, tworzącej więzadła ozębnej oraz wiotkiej, w której skład wchodzi komórki, naczynia i nerwy. Więzadła ozębnej budują dwa rodzaje włókien – oksytalanowe oraz kolagenowe. Ich zadaniem jest utrzymanie zęba w zębodole oraz amortyzacja sił żucia wywieranych na ząb oraz przyzębie.

Unaczynienie ozębnej pochodzi z tętnic dziąsłowych, zębowych oraz tętnic wyrostka zębodołowego. Poprzez tętnice zębowe ma ona bezpośrednią łączność z miazgą zęba, dzięki czemu wszelkie patologie mogą przenosić się z miazgi zęba w okolice okołowierzchołkową. Naczynia te odżywiają ozębną, jak również, wytwarzając sploty, uczestniczą w amortyzacji sił wywieranych na ząb podczas aktu żucia. Podczas nacisku sploty opróżniają się, gdy nacisk ustępuje wypełniają się z powrotem krwią, powodując powrót zęba do położenia wyjściowego. Ozębna posiada także dobrze rozbudowaną sieć naczyń limfatycznych. Chłonkę z ozębnej zbierają węzły chłonne podżuchwowe i podbródkowe.

Unerwienie ozębnej stanowią odgałęzienia nerwów miazgi, dziąseł oraz kości zębodołu. Włókna mielinowe posiadają proprioceptory, odbierające czucie bólu i dotyku. W przypadku nadmiernego nacisku pobudzone proprioceptory

wysyłają sygnał do mięśni żucia, hamując ich aktywność oraz uruchamiają reakcję bólową. Dzięki temu ozębna chroni ząb przed wtłoczeniem do zębodołu oraz nadmiernym obciążeniem. W skład nerwów ozębnej wchodzi także włókna bezzielinowe – naczynioruchowe – wchodzące w skład układu autonomicznego. Komórki ozębnej można podzielić na 5 grup:

1. Komórki typowe dla tkanki łącznej (fibroblasty i komórki mezenchymatyczne).
2. Komórki obronne osiadłe w tkankach (mastocyty i komórki plazmatyczne).
3. Odpowiedzialne za tworzenie i przebudowę cementu korzeniowego (cementoblasty i cementoklasty).
4. Odpowiedzialne za tworzenie i przebudowę kości (osteoblasty i osteoklasty).
5. Komórki nabłonkowe Malasseza jako pozostałość po torebce nabłonkowej Hertwiga, wywodzącej się z narządu szkliwotwórczego. Komórki te w warunkach fizjologii wykazują obniżony metabolizm komórkowy, natomiast w warunkach patologii, mogą dzięki swemu rozrostowi uczestniczyć w tworzeniu ziarniniaków oraz torbieli [13].

Do funkcji ozębnej zaliczamy: utrzymanie zęba w zębodole oraz jego amortyzację, wytwarzanie włókien kolagenowych oraz cementu korzeniowego i jego odżywianie; zdrowa ozębna zapewnia też barierę chroniącą organizm przed zakażeniem, mogącym się szerzyć z patologicznie zmienionej miazgi.

### 1.1.3 Cement korzeniowy

Cement korzeniowy, kostniwo (*cementum, substantia ossea*) to zmineralizowana tkanka pochodzenia mezenchymalnego pokrywająca korzeń zęba. Składa się głównie z substancji nieorganicznej – fosforanu wapnia oraz substancji organicznych – włókien kolagenowych, osseokumoidu, proteoglikanów oraz wody. Rozróżnia się dwa rodzaje cementu- komórkowy i bezkomórkowy. Cement bezkomórkowy (pierwotny) przylega bezpośrednio do zębiny od połączenia szkliwno-cementowego do ok 1/3 przywierzchołkowej korzenia. Cement komórkowy spotyka się na powierzchni cementu bezkomórkowego, chociaż może się również odkładać bezpośrednio na zębiny. Posiada on cementoblasty, które biorą udział w tworzeniu i odkładaniu cementu. W przeciwieństwie do kości wyrostka zębodołowego, cement w warunkach fizjologicznych nie podlega resorpcji.

Do funkcji cementu należy naprawa złamań korzenia, tworzenie cementu w miejscu jego wcześniejszego zresorbowania, umocowanie włókien ozębnej oraz zamykanie otworu wierzchołkowego postępujące z wiekiem.

#### 1.1.4 Kość wyrostka zębodołowego

Kość wyrostka zębodołowego składa się z blaszki zbitej oraz kości gąbczastej. Blaszka zbita (*lamina dura*) zbudowana jest z kości zbitej, zawierającej osteony zwane systemami Haversa. W kanałach osteonów znajdują się naczynia krwionośne, limfatyczne oraz nerwy, które łączą się z okostną. Okostna to struktura, która pokrywa zewnętrzną powierzchnię blaszki zbitej, przytwierdzona jest do kości wyrostka za pomocą włókien kolagenowych. Między okostną a kością wyrostka zębodołowego znajdują się osteoblasty, które odpowiadają za odbudowę kości po jej zniszczeniu. Kość gąbczasta natomiast zbudowana jest z beleczek, wewnątrz których znajdują się osteocyty, między którymi znajdują się jamki wypełnione szpikiem kostnym.

Do funkcji zębodołu zalicza się utrzymywanie równowagi między resorpcją a apozycją kości oraz umocowanie włókien ozębnej. W warunkach fizjologicznych resorpcja i tworzenie kości znajduje się w równowadze – osteoklasty usuwają kość po stronie uciskanej, apozycja kości następuje po stronie pociąganej przez napięte włókna ozębnej. Dlatego też ząb przesuwa się wraz z zębodołem, a więzadła nie zostają uszkodzone. W warunkach patologii, co ma miejsce w zapalnych stanach tkanek okołowierzchołkowych, przeważa działalność osteoklastów, które pobudzone przez bodźce zapalne powodują powstanie ubytków kostnych. Odtwarzanie kości przez osteoblasty następuje dopiero po usunięciu bodźca zapalnego.

### 1.2 Procesy zapalne przyzębia okołowierzchołkowego.

#### 1.2.1 Definicja procesu zapalnego

Procesem zapalnym można nazwać złożony, dynamiczny i uporządkowany ciąg następstw zachodzący w tkankach w odpowiedzi na czynnik uszkodzający. Czynniki uszkodzające można podzielić na:

1. Fizyczne (mechaniczne, promieniowanie jonizujące, pole magnetyczne, fale ultradźwiękowe).
2. Chemiczne (terpentyna, kwasy, zasady).
3. Biologiczne (bakterie, wirusy, grzyby, pierwotniaki, egzotoksyny, endotoksyny).

Zapalenie ma na celu ograniczenie działania, zniszczenie i usunięcie bodźca przyczynowego oraz naprawę powstałych uszkodzeń. Proces ten można podzielić na przewlekły lub ostry w zależności od siły i czasu działania bodźca na tkankę. Umiarkowany odczyn zapalny jest korzystny dla organizmu, ponieważ prowadzi do usuwania produktów martwiczych, wydalania egzotoksyn i endotoksyn wraz z wysiękiem oraz tworzenia linii oddzielającej ognisko zapalne dzięki przewodze procesów naprawczych nad procesami niszczenia [23].

### *1.2.1.1 Reakcja ostrej fazy*

Reakcją ostrej fazy zapalenia nazywa się gwałtowne i natychmiastowe zmiany zachodzące w tkankach uszkodzonych oraz objawy ogólnoustrojowe procesu zapalnego: podwyższona temperatura ciała, ból, zaburzenia wodno-elektrolitowe, wydzielanie białek ostrej fazy (CRP), neutrofilia. Głównymi mediatorami zapalenia są białka o niskiej masie cząsteczkowej zwane cytokinami. W obrębie tkanek manifestuje się zmianami w mikrokrążeniu – dochodzi do poszerzenia światła naczyń krwionośnych, przez co do obszaru zapalnego napływa krew. Skurcz naczyń żylnych powoduje zwolnienie przepływu krwi, co zwiększa ciśnienie hydrostatyczne i skutkuje w powstawaniu drobnych przyściennych zakrzepów oraz agregacji płytek krwi w uszkodzonym śródbłonku. Na skutek zwiększenia przepuszczalności naczyń, płyn wysiękowy przenika do tkanek powodując obrzęk, który tworzy tzw. blokadę chłonną. Komórki układu odpornościowego odpowiedzialne są za fagocytozę drobnoustrojów, kompleksów antygen-przeciwciała oraz trawienie wewnątrzkomórkowe. Dzięki enzymom proteolitycznym powodują rozpuszczanie martwicy skrzepowej a histolitycznym – oddzielanie obumarłej tkanki. Następstwem nasilenia procesów zapalnych jest uruchomienie procesów fibrynolizy i krzepnięcia. Fibrynogen przenika do przestrzeni pozanaczyniowej i formuje tzw. blokadę włóknikową. Zadaniem obu blokad – włóknikowej i chłonnej – jest ograniczenie procesu zapalnego. Zakończenie procesów naprawczych wiąże się z usunięciem tkanek obumarłych i rewaskularyzacją tkanek uszkodzonych. Podczas tej fazy zapalenia, następuje jego ograniczenie, usunięcie czynnika uszkadzającego oraz przywrócenie homeostazy organizmu.

### *1.2.1.2 Zapalenie przewlekłe*

Zapalenie przewlekłe natomiast jest często zejściem fazy ostrej, gdzie proces nie toczy się tak gwałtownie, jednak tkanki nie ulegają zagojeniu ze względu na ciągłe nieusunięte działanie bodźca uszkadzającego o mniejszym natężeniu niż w fazie ostrej lub niewystarczające zdolności regeneracyjne organizmu. Zdarzają się również zapalenia o pierwotnie przewlekłym przebiegu, kiedy bodziec uszkadzający działa z niewielką siłą przez długi okres czasu.

Faza ostra zapalenia charakteryzuje się silnie wyrażonymi objawami podmiotowymi, takimi jak złe samopoczucie, uczucie rozbicia. Towarzyszy im na ogół stan podgorączkowy lub gorączka, ból, w badaniu przedmiotowym często stwierdza się obrzęk, zaczerwienienie, ucieplenie tkanek oraz zaburzenie ich funkcji. Natomiast przewlekła faza charakteryzuje się mniej nasilonymi objawami podmiotowymi lub ich zupełnym brakiem, z kolei objawy przedmiotowe bywają niecharakterystyczne i na ogół niedokuczliwe dla pacjenta, dlatego też zapalenia przewlekłe w stomatologii wykrywane są najczęściej przypadkowo na zdjęciach radiologicznych (co ma często miejsce w przypadku ziarniniaków i

torbieli) lub kiedy proces spowoduje znaczną, zauważalną dla pacjenta destrukcję tkanek lub ulegnie zaostrzeniu.

W niniejszej pracy będę zajmowała się przewlekłymi zmianami zapalnymi toczącymi się w przyzębiu okołowierzchołkowym.

### 1.2.2 Podział zapaleń okołowierzchołkowych

Zapalenia okołowierzchołkowe, jak wszystkie zapalenia, można podzielić na dwie duże grupy: ostre i przewlekłe. Istnieje wiele podpodziałów tych zapaleń, które przedstawiono w tabeli 1. Ostre zapalenia tkanek okołowierzchołkowych charakteryzują się dużym nasileniem objawów podmiotowych i cech właściwym zapaleniom ostrym, opisanym powyżej. Cechy przewlekłych zapaleń tkanek okołowierzchołkowych natomiast, wpisują się w ogólne kanony zapaleń przewlekłych. W niniejszej pracy będę zajmowała się badaniem dwóch konkretnych postaci przewlekłych zapaleń tkanek okołowierzchołkowych – ziarninowego i torbieli, które zostaną opisane dokładnie poniżej.

**Tabela 1. Podział zapaleń tkanek okołowierzchołkowych [12]**

*Tabele 1. Classification of periapical inflammations [12]*

| Autor<br><i>Author</i> | Jednostka chorobowa<br><i>Disease</i>   |
|------------------------|---|
| Cohen i Burns          | Ostre okołowierzchołkowe zapalenie przyzębia<br><i>Acute periapical periodontitis</i> |
|                        | Ostry ropień wierzchołkowy<br><i>Acute apical abscess</i>                             |
|                        | Przewlekłe wierzchołkowe zapalenie przyzębia<br><i>Chronic apical periodontitis</i>   |
|                        | Ropiejące zapalenie przyzębia<br><i>Purulent periodontitis</i>                        |
|                        | Ropień nawracający<br><i>Reccurent abscess</i>  |
|                        | Torbiel wierzchołkowa<br><i>Apical cyst</i>   |
|                        | Przywierzchołkowa osteosklerozą<br><i>Periapical osteosclerosis</i>                   |
| Stock i wsp.           | Ostre okołowierzchołkowe zapalenie<br><i>Acute periapical periodontitis</i>           |
|                        | Ostry ropień wierzchołkowy<br><i>Acute apical abscess</i>                             |
|                        | Przewlekłe zapalenie przyzębia wierzchołkowego<br><i>Chronic periodontitis</i>        |
|                        | Zagęszczające zapalenie kości<br><i>Densyfying ostitis</i>                            |
| Ingle i Beveridge      | Ostre wierzchołkowe zapalenie przyzębia<br><i>Acute apical periodontitis</i>          |
|                        | Ostry ropień wierzchołkowy<br><i>Acute apical abscess</i>                             |

| Autor<br><i>Author</i> | Jednostka chorobowa<br><i>Disease</i>  |
|------------------------|--|
|                        | Ropiejące zapalenie przyzębia wierzchołkowego<br><i>Purulent periodontitis</i>               |
|                        | Przewlekłe zapalenie przyzębia wierzchołkowego<br><i>Chronic periodontitis</i>               |
|                        | Ropień nawracający<br><i>Recurrent abscess</i>   |
|                        | Torbiel wierzchołkowa<br><i>Apical cyst</i>  |
|                        | Przywierzchołkowe zagęszczające zapalenie kości<br><i>Periapical densifying osteitis</i>     |
| Walton i Torabinejad   | Ostre wierzchołkowe zapalenie przyzębia<br><i>Acute apical periodontitis</i>                 |
|                        | Ostry ropień wierzchołkowy<br><i>Acute apical abscess</i>                                    |
|                        | Ropiejące zapalenie przyzębia wierzchołkowego<br><i>Purulent apical periodontitis</i>        |
|                        | Przewlekłe zapalenie przyzębia wierzchołkowego<br><i>Chronic apical periodontitis</i>        |
|                        | Torbiel wierzchołkowa<br><i>Apical cyst</i>  |
|                        | Zagęszczające zapalenie kości<br><i>Densifying osteitis</i>                                  |
| Grossman               | Ostre wierzchołkowe zapalenie przyzębia<br><i>Acute apical periodontitis</i>                 |
|                        | Ostry ropień wierzchołkowy<br><i>Acute apical abscess</i>                                    |
|                        | Ziarniniak<br><i>Granuloma</i>   |
|                        | Przewlekły ropień zębodołowy<br><i>Chronic alveolar abscess</i>                              |
|                        | Torbiel<br><i>Cyst</i>   |
|                        | Zagęszczające zapalenie kości<br><i>Densifying osteitis</i>                                  |
| Tornstad               | Objawowe zapalenie przyzębia wierzchołkowego<br><i>Symptomatic periodontitis</i>             |
|                        | Bezobjawowe zapalenie przyzębia wierzchołkowego<br><i>Asymptomatic periodontitis</i>         |
|                        | Wierzchołkowe zapalenie przyzębia z ropniem<br><i>Apical periodontitis with abscess</i>      |
|                        | Wierzchołkowe zapalenie przyzębia z przetoką<br><i>Apical periodontitis with fistula</i>     |
|                        | Zagęszczające zapalenie kości<br><i>Densifying osteitis</i>                                  |
| Barańska-Gachowska     | Ostre początkowe zapalenie tkanek okołowierzchołkowych<br><i>Acute initial periodontitis</i> |

| Autor<br><i>Author</i> | Jednostka chorobowa<br><i>Disease</i>  |
|------------------------|--|
|                        | Ostre ropne zapalenie tkanek okołowierzchołkowych<br><i>Acute purulent periodontitis</i><br>-ropień wierzchołkowy<br><i>periapical abscess</i><br>-ropień podokostnowy<br><i>subperiosteal abscess</i><br>-ropień podśluzówkowy<br><i>submucosal abscess</i> |
|                        | Przewlekłe włókniste zapalenie tkanek okołowierzchołkowych<br><i>Chronic fibrosus periodontitis</i>  |
|                        | Przewlekłe ropne zapalenie tkanek okołowierzchołkowych<br><i>Chronic purulent periodontitis</i>  |
|                        | Ziarniniak okołowierzchołkowy<br><i>Periapical granuloma</i>   |
|                        | Torbiel okołowierzchołkowa<br><i>Periapical cyst</i>   |
|                        | Przewlekłe zapalenie tkanek okołowierzchołkowych z osteosklerozą<br><i>Chronic periodontitis with osteosclerosis</i>   |

Tabela 2. Klasyfikacja wg Wilgi

Tabela 2. Wilga's classification

| Zapalenia ostre<br><i>Acute inflammations</i>  | Zapalenia przewlekłe<br><i>Chronic inflammations</i>  |
|--|---|
| Przekrwienie<br><i>Congestion</i>  | Ziarninujące<br><i>Granulomatous</i>  |
| Zapalenie surowicze<br><i>Serous inflammations</i>   | Ziarninowe:<br><i>Granular</i>  |
| Zapalenia ropne<br><i>Purulent inflammations</i><br>- stadium pierwsze<br><i>first stadium</i><br>- stadium drugie-ropień podokostnowy<br>lub podśluzówkowy<br><i>second stadium – subperiosteal or<br/>submucosal abscess</i> | Ziarniniak zwykły<br><i>Simple granuloma</i><br>Ziarniniak nabłonkowy<br><i>Epithelial granuloma</i><br>Ziarniniak torbielowaty-torbiel<br><i>Cystic granuloma - cyst</i> |
|  | Zapalenie ropne<br><i>Purulent inflammation</i>   |
|  | Zapalenie włókniste<br><i>Fibrous inflammation</i>  |

Klasyfikacja kliniczna Gachowskiej wydaje się być przejrzysta, biorąc pod uwagę zmiany, które zamierzam badać w niniejszej pracy – ziarninowe zapalenia okołowierzchołkowe oraz torbiele (tabela 3). W nieużywanej już klasyfikacji Wilgi (tabela 2) wyróżnia się 2 rodzaje zapaleń wytwórczych – ziarninujące i ziarninowe. Klinicznie przyjęto, że nieostro odgraniczone przejaśnienie w okolicy okołowierzchołkowej zęba, u pacjentów, gdzie wywiad i badania dodatkowe sugerują zmianę zapalną, nazywa się ziarniną okołowierzchołkową – jest to

wciąż często i szeroko stosowane pojęcie przez klinicystów. Natomiast zmiany o charakterze przejaśnień okołowierzchołkowych o okrągłym lub owalnym zarysie – do ok 1 cm średnicy bez widocznej otoczki osteosklerotycznej, nazywa się ziarniniakiem. Zdarza się jednak w praktyce, że po usunięciu zęba, przy którym na rentgenogramie rozpoznalibyśmy ziarninę, w trakcie łyżeczkowania stwierdzamy kliniczną postać ziarniniaka i odwrotnie – tam, gdzie zdjęcie sugerowałoby ziarniniaka, w trakcie łyżeczkowania stwierdza się nieupostaciowaną ziarninę. Stąd też określenie zapalenie ziarninowe (ziarniniak) wydaje się być trafnym. Widoczne na rentgenogramie dobrze odgraniczone zmiany okrągłego lub owalnego kształtu o średnicy powyżej 1 cm z otoczką osteosklerotyczną rozpoznajemy klinicznie jako torbiele. Trzeba pamiętać, że zawsze rozpoznanie histopatologiczne jest rozpoznaniem ostatecznym, jednak ze względu na częstość występowania zmian okołowierzchołkowych nieotorbionych i ich niewielką inwazyjność oraz najczęściej brak wątpliwości klinicznych, duża część tych zmian nie jest poddawana weryfikacji histopatologicznej. Neville podaje, że ziarniniaki stanowią ok. 75% przewlekłych zmian zapalnych okołowierzchołkowych [94]. Rozpoznane radiologicznie zapalenia ziarninujące mają często postać ziarniniaków w obrazie mikroskopowym. Zarówno dla zapalenia ziarninowego jak i ziarninującego najważniejszym procesem jest rozrost ziarniny różniącej się od siebie stopniem dojrzałości [12], dlatego też w niniejszej pracy określenia: zapalenie ziarninowe, ziarniniak lub ziarnina będą stosowane wymiennie, określając patologiczną zmianę zapalną, której istotą jest rozrost ziarniny. Rycina 1 przedstawia obraz radiologiczny przewlekłego ziarninowego zapalenia tkanek okołowierzchołkowych.

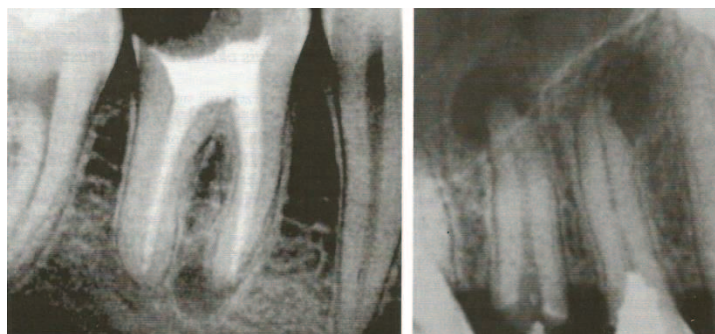


Rycina 1. Obraz RTG przewlekłego ziarninowego zapalenia okołowierzchołkowego. Wokół wierzchołka widoczne nieostro odgraniczone przejaśnienie [12]

*Figure 1. Radiographic picture of periapical periodontitis. Visible diffused periapical opacity [12]*

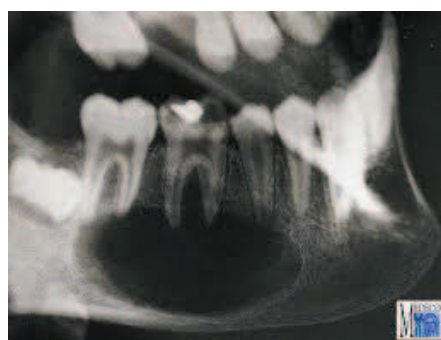


Zapalenie przewlekłe tkanek okołowierzchołkowych ma miejsce jako zejście procesu ostrego lub jako proces pierwotnie przewlekły, kiedy długotrwałe tocząca się patologia miazgi przenosi się na tkanki okołowierzchołkowe zęba. Najczęściej przebiega bezobjawowo a wykrywany jest przypadkowo na zdjęciach rentgenowskich. Wszystkie zapalenia tkanek okołowierzchołkowych, z wyjątkiem włóknistego, odbywają się z resorpcją kości, dając obraz przejaśnienia okolicy wierzchołkowej w obrazie rentgenowskim. Należy zaznaczyć, że przewlekłe zapalenia okołowierzchołkowe tkanek przyzębia widoczne są w obrazie rentgenowskim po około 2 tygodniach. Dopiero po tym czasie resorpcja kości jest na tyle duża, że daje obraz przejaśnienia, które lekarz może rozpoznać na radiogramie.



Rycina 2. Obraz przewlekłego ziarninowego zapalenia tkanek okołowierzchołkowych – ziarniniak. Widoczne przejaśnienie, dość regularnego kształtu, dobrze odgraniczone od otaczających tkanek [12]

*Figure 2. Radiographic picture of chronic periapical granulomas. Visible regular-shaped, concentrated opacity [12]*



Rycina 3. Zdjęcie radiologiczne torbieli korzeniowej, najprawdopodobniej od zgorzelinowego zęba 46. Duże przejaśnienie, dobrze odgraniczone od otaczających tkanek [125]

*Figure 3. Radiographic picture of periapical cyst, probably caused by gangrenous tooth 46. Large opacity, which is well demarcated from surrounding tissues [98]*

Tabela 3. Klasyfikacja zapaleń okołowierzchołkowych wg Gachowskiej [12]

Tabela 3. Classification of periapical inflammations according to Gachowska [12]

| Zapalenie ostre<br><i>Acute inflammation</i>                | Zapalenie przewlekłe<br><i>Chronic inflammation</i>  | Zapalenie przewlekłe<br>zaostrome<br><i>Exacerbated chronic<br/>inflammation</i> |
|---|--|--|
| Ostre początkowe<br><i>Acute ininitial</i>                  | Włókniste<br><i>Fibrous</i>  |  |
| Ostre ropne<br><i>Acute purulent</i>                        | Ziarninowe-ziarniniak<br><i>Granular - granuloma</i>   |  |
| Ropień okołowierz-<br>chołkowy<br><i>Periapical abscess</i> | Torbiel<br><i>Cyst</i>   |  |
| Ropień podokostnowy<br><i>Subperiosteal abscess</i>         | Zapalenie tkanek okołowierz-<br>chołkowych z osteosklerozą<br><i>Periodontitis with<br/>osteosclerosis</i> |  |
| Ropień podśluzówkow<br><i>Submucosal abscess</i>            |  |  |

### 1.2.3 Niszczenie kości w zapaleniach okołowierzchołkowych

Procesy zapalne toczące się w tkankach okołowierzchołkowych charakteryzują się ubytkiem tych tkanek. W procesie chorobowym dochodzi do niszczenia zarówno struktur ozębnej, cementu korzeniowego, jak i kości wyrostka zębodołowego. Należy podkreślić, że najszybszy ubytek tkanek ma miejsce podczas fazy ostrej zapalenia, w fazie przewlekłej natomiast postępuje powiększając swoje rozmiary, lecz wolniej.

Niszczenie tkanki kostnej odbywa się zarówno poprzez działanie bakterii i ich produktów, jak również, w większym stopniu, poprzez uruchomienie mechanizmów obronnych gospodarza. Do produktów bakteryjnych można zaliczyć między innymi lipopolisacharydy (LPS), będące integralną częścią ścian komórkowych bakterii Gram-ujemnych. LPS aktywują makrofagi do produkcji istotnych mediatorów prozapalnych, takich jak czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF alfa) i interleukiny prozapalne [6]. Cytując Thomasa [135], możemy następująco określić rolę LPS w destrukcji tkanek „ (...) poprzez LPS jesteśmy w stanie zapoczątkować każdy mechanizm obronny, jaki wchodzi w grę w danej sytuacji; zbombardujemy, złuszczymy, zablokujemy, rozszczelnimy i zniszczymy wszystkie otaczające tkanki.” Obronę gospodarza stymulują również enzymy bakteryjne, takie jak kolagenaza, hialuronidaza, proteaza i wiele innych. Niektóre bakterie z rodzaju *Porphyromonas* i *Prevotella* mogą niszczyć przeciwciała IgG i IgM [59] oraz składowe dopełniacza C3 [126] a molekuly te są niezbędne zarówno do obrony humoralnej gospodarza jak i fagocytozy.

W destrukcji tkanek okołowierzchołkowych będącej konsekwencją uruchomienia procesów obronnych gospodarza, biorą udział osteoklasty, metaloproteiny, leukocyty o polimorficznym jądrze (PMN), substancje uwalniane z makrofagów i komórek tucznych oraz szlak RANKL/RANK/OPG. Osteoklasty dostają

się drogą krwionośną jako pro-osteoklasty do tkanek okołowierzchołkowych i osiadają na tkance kostnej. Zaktywowane osteoblastami zaczynają proliferować i tworzyć wielojądrowe osteoklasty, które rozprzestrzeniają się na dotkniętej zapaleniem kości. Między powierzchnią kości a osteoklastami wytwarza się przestrzeń, zwana podosteoklastycznym kompartmentem, gdzie zachodzi resorpcja kości na zasadach:

- a) demineralizacji substancji mineralnych na skutek obniżenia pH środowiska
- b) enzymatycznego rozpuszczenia substancji organicznych [92].

Metaloproteinazy (MMP) to grupa cynkozależnych proteaz, które odpowiedzialne są za degradację komponentów substancji zewnątrzkomórkowej, takich jak kolagen, fibronektyna, laminina, białka o rdzeniu proteoglikanowym [16]. Ich obecność w zmianach okołowierzchołkowych została dowiedziona przez Teronena i Shina [117, 132]. PMN w zapaleniach okołowierzchołkowych powodują destrukcję tkanek gospodarza, choć z zasady należą do grupy komórek obronnych [36]. Przeważają w ostrej fazie zapalenia, kiedy procesy niszczenia tkanek przebiegają z największą intensywnością. Wydzielają prostaglandynę D2 (PGD2) aktywującą osteoklasty. PGD2 podobnie jak PMN obecna jest w dużych ilościach w ostrej fazie zapalenia tkanek okołowierzchołkowych [85]. Odkryty szlak RANKL/RANK/OPG występuje w warunkach fizjologii i patologii. Jego regulacja zależy m.in. od rodziny czynników TNF. Ma on znaczącą rolę w destrukcji kości. Osteoprotegeryna (OPG) chroni szkielet przed nadmierną resorpcją kości poprzez łączenie się z RANKL (który okazał się być identyczny z rodziną ligandów TNF [4]) hamując łączenie się jego z jego receptorem- RANK. W ten sposób zahamowana zostaje nadmierna destrukcja kości przez osteoklasty. Dlatego też równowaga w układzie RANKL/OPG jest ważną składową integralności szkieletu i utraty kości. Fizjologicznie, kiedy zachowana jest równowaga między RANKL a OPG, kość pozostaje w przebudowie, bez nadmiernej jej utraty. Przy przewadze RANKL nad OPG, następuje zachwianie tej równowagi i niszczenie kości [20].

Rola komórek tucznych w destrukcji tkanek przyzębia okołowierzchołkowego zostanie omówiona w osobnym podrozdziale.

#### **1.2.4 Powstawanie ziarniniaków i torbieli**

Z histologicznego punktu widzenia do powstania zapalenia przewlekłego ziarninowego oraz torbieli potrzebne są dwie składowe: drobnoustroje pochodzące z zapalnie zmienionej miazgi [19] oraz tzw. wyspy Malasseza, czyli komórki nabłonkowe będące pozostałością narządu szkliwotwórczego. Trwający proces zapalny oraz zmniejszona zdolność procesów obronnych gospodarza by go przezwyciężyć, powoduje tworzenie zamkniętej bariery składającej się z ziarniny i obwodowo ułożonej tkanki włóknistej, co odzwierciedla równowagę między działaniem mikroorganizmów a mechanizmami obronnymi gospodarza.

Wdrożenie odpowiedzi obronnej, pierwotnie powoduje zniszczenie tkanek, lecz finalnie wydaje się stymulować je do naprawy [34]. Jak wspomniano powyżej, drobnoustroje pobudzają mechanizmy obronne gospodarza, dzięki czemu następuje szereg reakcji doprowadzających do powstania zmiany okołowierzchołkowej. Patogeny, przedostając się z kanału korzeniowego do ozębnej, powodują napływ komórek obronnych i powstanie nacieku zapalnego. W jego skład wchodzi: leukocyty PMN [36] makrofagi, limfocyty [77], plazmocyty, immunoglobuliny oraz komórki tuczne [34, 99, 103]. Limfocyty należą do: limfocytów T, B oraz *natural killer* (NK). W zmianach okołowierzchołkowych stwierdza się również obecność komórek dendrytycznych [101].

W pierwszym etapie czynnik zakaźny powoduje rozrost komórek Malasseza. Substancje wydzielane przez bakterie, pochodzące z zainfekowanego kanału korzeniowego pobudzają wytwarzanie i gromadzenie tkanki ziarninowej a mechanizmy wspomniane wcześniej niszczą struktury przyzębia, czyniąc „miejsce” dla powstającej zmiany. W wyniku tych procesów powstaje ziarniniak. Składa się on tkanki ziarninowej oraz komórek nacieku (wymienionych powyżej), fibroblastów i włóknistej kapsuły. Ponad 45% przewlekłych zmian okołowierzchołkowych jest wynabłonkowanych [109]. Gdy komórki nabłonka zaczynają się namnażać, tworzą nieregularną masę, w której zostaje zamykana tkanka łączna oraz naczynia krwionośne [92]. W niektórych zmianach nabłonek może wpuklać się w światło kanału korzeniowego, tworząc „czop” zamykający otwór wierzchołkowy korzenia zęba [91]. Powstanie torbieli zapalnej jest bezpośrednim następstwem ziarniniaka, lecz nie każdy rozwija się w torbiel. Wg Simona torbiele stanowią około 20% przewlekłych zmian okołowierzchołkowych [118].

Tworzenie torbieli korzeniowej zapalnej zdaje się odbywać w trzech etapach [112]. W fazie pierwszej, resztki komórek nabłonkowych Malasseza namnażają się, prawdopodobnie na skutek działania czynników wzrostu [45, 69, 133] wydzielanych z komórek obecnych w zmianie. W drugim etapie powstaje jama torbieli. Istnieją dwie teorie na ten temat: pierwsza z nich, „Teoria niedoborów odżywczych” zakłada, że komórki nabłonkowe, które znajdują się najbardziej dośrodkowo zostają pozbawione źródła odżywiania i umierają. Produkty degradacji przyciągają granulocyty obojętnochłonne do miejsca martwicy. Tak powstałe jamki, zawierające rozpadające się komórki nabłonka, leukocyty i resztki produktów degeneracji tkankowej, są przyczynkiem do powstania jamy torbieli wycielanej warstwowo nabłonkiem płaskim.

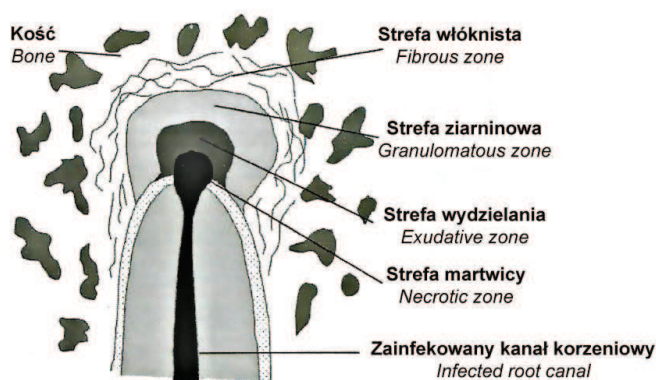
„Teoria ropnia” zakłada, że namnażający się nabłonek otacza ropień, powstały na skutek martwicy i rozkładu tkanek. Może się tak dzieć ze względu na właściwości komórek nabłonkowych polegające na możliwości pokrywania obnażonej tkanki łącznej [92].

W trzeciej fazie tworzenia torbieli, rośnie ona, choć mechanizm ten nie został ostatecznie wyjaśniony. Wcześniejsze teorie mówią o wpływie ciśnienia osmotycznego na wzrost torbieli [52, 137]. Obecnie rozważane są cząsteczkowe

mechanizmy wzrostu, ze względu na dynamikę tkankową oraz komponentę komórkową torbieli korzeniowych. Granulocyty obojętnochłonne ulegające martwicy w świetle torbieli zapewniają ciągłe źródło prostaglandyn [42], które mogą przenikać przez porowatą ścianę torbieli [112] do otaczających tkanek, stymulując ich niszczenie. Komórki znajdujące się w obszarze poza nabłonkowym to limfocyty T [138] oraz makrofagi, produkujące cytokiny. Prostaglandyny i cytokiny mają zdolność aktywacji osteoklastów, które mogą resorbować kość.

Zawartość torbieli stanowi płyn, który składa się z komórek nabłonka, leukocytów, erytrocytów, albumin, globulin oraz kryształków cholesterolu. Torebka zbudowana jest z 3 warstw. Najbardziej wewnętrzna jest wyścielona nabłonkiem, środkowa zbudowana jest z błony podstawnej a najbardziej zewnętrzna składa się z tkanki łącznej. Rozrost torbieli odbywa się zgodnie z kilkoma zasadami. Po pierwsze, następuje zanik otaczającej kości przez ucisk. Komórki nabłonka namnażają się, następuje przesączanie z otaczających torbiel naczyń włosowatych. Pewną rolę odgrywa osmoza oraz mechanizmy komórkowe opisane przy destrukcji tkanek przyzębia.

Według Martona i Kissa [78], kluczową cechą różnych form przewlekłego zapalenia okołowierzchołkowego, jest obecność tkanki ziarninowej wytwarzanej przez jednojądrowe i PMN leukocyty oraz elementy włóknisto-naczyniowe, bez zauważalnego podziału elementów komórkowych. Około 50% tych zmian jest wyścielanych nabłonkiem płaskim. Rycina 4 przedstawia ogólną budowę przewlekłej zmiany okołowierzchołkowej wg Martona i Kissa [78].



Rycina 4. Schemat przewlekłego zapalenia okołowierzchołkowego ziarninowego wg Martona [78]

*Figure 4. Scheme of chronic periapical granuloma according to Marton [78]*

### 1.3 Komórki tuczne

Komórki tuczne, inaczej zwane mastocytami lub labrocytami, to komórki wywodzące się z wielopotencjalnych komórek hematopoetycznych szpiku kost-

nego [60, 61], lokalizowane często w tkance łącznej [111]. Zostały odkryte przez Paula Ehrlicha w 1877 roku [38]. Są to duże komórki owalnego kształtu z okrągłym, środkowo ułożonym jądrem. Mastocyty umiejscowione są najczęściej w miejscach stanowiących wrota zakażenia, a więc w skórze, pod nabłonkiem układu oddechowego, przewodu pokarmowego i dróg moczowych, a także przy naczyniach krwionośnych i limfatycznych. Może to wskazywać na fakt, że mastocyty są jednymi z pierwszych komórek rozpoznających wnikający do organizmu patogen [22], a więc odgrywają znaczącą rolę w mechanizmach obronnych. Są komórkami długowiecznymi – w dojrzałych tkankach przeżywają nawet lata. Posiadają do tysiąca ziarnistości zasadochłonnych, w których zgromadzone są substancje uwalniane podczas reakcji zapalnej. Ze względu na obecność enzymów proteolitycznych, można je podzielić na 2 subpopulacje: 1. zawierające tryptazę i chymazę oraz 2. zawierające tylko tryptazę [51]. Uwalnianie mediatorów odbywa się w trzech etapach:

1. W czasie do 5 minut po aktywacji, następuje sekrecja mediatorów preformowanych zawartych w ziarenkach cytoplazmy – proteoglikanów, enzymów, amin biogennych oraz cytokin.
2. 30 minut po aktywacji uwalniane są wtórne mediatory powstające z przemian lipidów błonowych – prostaglandyny, leukotrieny (LT), tromboksany (TX) i czynnik aktywujący płytki (PAF).
3. 6 godzin po aktywacji, wydzielane są syntetyzowane *de novo* cytokiny, wśród nich chemokiny, (tabela 4).

Tabela 4. Mediatorsz uwalniane z komórki tucznej [22]

Tabelle 4. Mediators released from a mast cell [22]

| Komórka Tuczna<br><i>Mast Cell</i> | Mediatorsz<br><i>Mediators</i>  |  |   |
|------------------------------------|---|--|---|
|                                    | Performowane<br>(5 min po aktywacji)<br><i>Performed</i><br>(5 min after activation)  | Pochodne lipidów<br>błonowych<br>(30 min po aktywacji)<br><i>Derived from mem-<br/>brane lipids (30 min<br/>after activation)</i>  | Cytokiny syntetyzowa-<br>ne de novo (6 godz po<br>aktywacji)<br><i>De novo synthesised<br/>cytokins (6 hours after<br/>activation)</i>  |
|                                    | Histamina, hepa-<br>ryna/siarczan chondroityny,<br>obojętne proteinazy<br>(tryptaza, chymaza, kar-<br>boksypeptydaza), kwaśne<br>hydrolazy, metaloprotein-<br>azy (MMP-9, MMP-2,<br>MMP-3), elastaza,<br>katepsyna G, kininogenaza,<br>cytokiny (TNF, bFGF,<br>VEGF, TGF-beta, NGL,<br>IL-3, -4, -5, -6, -6, -8)<br><i>Histamine, hepa-<br/>rin/chondroitine sulfate,<br/>neutral proteinases<br/>(tryptase, chymase, car-<br/>bocypeptidase), acidic<br/>hydrolases, metalopro-<br/>teinases (MMP-9,<br/>MMP-2, MMP-3), elas-<br/>tase, katepsin-G, ki-<br/>ninogenase, cytokins<br/>(TNF, bFGF, VEGF,<br/>TGF-beta, NGL, IL-3, -<br/>4, -5, -6, -6, -8)</i> | PGD2, PGE2, LTB4,<br>LTD4, TXA2, PAF<br>PGD2, PGE2, LTB4,<br>LTD4, TXA2, PAF<br><br><i>PGD2, PGE2, LTB4,<br/>LTD4, TXA2, PAF<br/>PGD2, PGE2, LTB4,<br/>LTD4, TXA2, PAF</i> | IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-<br>2, IL-3, IL-4, -5, -6, -9,<br>-10, -12, -13, -16, -18,<br>TNF, GM-CSF, INF<br>gamma, PDGF, SCF,<br>MIP-1 alfa, MIP-1<br>beta, MIP-2 alfa, MIP-<br>2 beta, MIP-3 alfa,<br>MCP-1, MCP-3, MCP-<br>4, RANTES, lim-<br>fotaktyna, eotaktyna<br><i>IL-1 alfa, IL-1 beta,<br/>IL-2, IL-3, IL-4, -5,<br/>-6, -9, -10, -12, -13,<br/>-16, -18, TNF, GM-<br/>CSF, INF gamma,<br/>PDGF, SCF, MIP-1<br/>alfa, MIP-1 beta,<br/>MIP-2 alfa, MIP-2<br/>beta, MIP-3 alfa,<br/>MCP-1, MCP-3,<br/>MCP-4, RANTES,<br/>limfotactine, eotac-<br/>sine</i> |

### 1.3.1 Mediatorsz mastocytów

#### 1.3.1.1 Mediatorsz performowane

Wielu autorów wykazało degranulację komórek tucznych pod wpływem wprowadzonych żywych i zabitych bakterii [26, 55, 73, 90, 98], jak również w odpowiedzi na stymulację antygenami bakteryjnymi rzęsek lub ścian komórkowych [74]. Degranulacja mastocytów i wydzielanie mediatorów performowanych odbywa się również poprzez działanie białek i toksyn wytwarzanych przez bakterie [2, 142].

Ważną informacją jest fakt, że degranulacja mastocyta prowadzi do wydzielania wszystkich mediatorów performowanych, a więc uwolnienie jednej substancji z tej grupy, świadczy także o sekrecji pozostałych [22].

#### 1.3.1.2 Mediatory wtórne

W piśmiennictwie jest niewiele informacji dotyczących stymulacji mastocytów do wytwarzania mediatorów wtórnych poprzez bakterie i ich produkty. Wykazano, że komórki tuczne wydzielają leukotrieny cysteinowe w odpowiedzi na peptydoglikany (PGN) *S. aureus* [83] oraz duże ilości LTB<sub>4</sub> i LTC<sub>4</sub> w odpowiedzi na bakterie *E. Coli* [72]. Pod wpływem białka L *P. magnus*, Patella i wsp. stwierdzili jednoczesną sekrecję histaminy, leukotrienów i/lub PGD<sub>2</sub> [104].

#### 1.3.1.3 Mediatory syntetyzowane de novo

Wg wielu autorów substancje wydzielane przez bakterie pobudzają komórki tuczne do syntezy mediatorów *de novo*. Tworzone *de novo* są: TNF [35, 72, 90], IL-4, IL-6 [50], IL-1 alfa, IL-1 beta [70]. LPS powoduje produkcję TNF, IL-1 beta, -6, -13, -5, -10 [79, 88, 128], PGN z kolei – TNF, IL-4, -5, -6, -13 [127].

Rola mediatorów zostanie omówiona szczegółowo w podrozdziale „Obrona organizmu”.

### 1.3.2 Aktywacja mastocytów

Aktywacja komórek tucznych poprzez stymulację bakteryjną może się odbywać na drodze czterech mechanizmów:

1. Układu dopełniacza metodą alternatywną i klasyczną, gdzie powstają cząsteczki C3a i C5a [39, 56]. Pełnią one również rolę chemoatraktantów, wpływając na rekrutację komórek tucznych do miejsca infekcji bakteryjnej [95].
2. Interakcji białek szoku termicznego (HSP) z cząsteczkami TLR [53, 63] obecnymi na błonie komórek tucznych [82, 83]. Występujące na błonie mastocytów ludzkich TLR zaliczamy do TLR2, TLR4, TLR6, TLR8 [39, 128]. Rozpoznanie bakterii przez TLR następuje dzięki strukturom PAMP związanymi z patogenem.
3. Cząsteczki CD48 obecnej na błonie komórkowej mastocyta [3, 72, 116] i jej bakteryjnego ligandu – lektyny wiążącej mannozę związanej z fimbriami typu I – FimH. Wg Malaviya i wsp. wydzielanie TNF pod wpływem *E. coli* jest wynikiem interakcji FimH i CD48. [72, 73].
4. IgG, która opłascza bakterie oraz receptorów Fc tego przeciwciała, znajdujących się w dużych ilościach na błonie komórkowej komórek tucznych [14, 100].

Również peptydy przeciwbakteryjne wydzielane przez komórki obronne w odpowiedzi na infekcję bakteryjną, mogą aktywować mastocyty [67, 145]. I tak



beta-defensyna 2 i katelicydyna LL-37 zarówno aktywują, jak pobudzają sekrecję histaminy, beta-defensyna 2 również do syntezy PGD2 [97]. Substancje te są również silnymi chemoatraktantami mastocytów [96]. Można przypuszczać, że przy udziale IgG opłaszczających bakterie oraz receptorów fragmentu Fc tej immunoglobuliny obecnych w błonie mastocytów, dochodzi do aktywacji komórki tucznej [14, 100]. Powstające na drodze degradacji fibrynogenu i fibronektyny peptydy stymulują degranulację mastocytów [22].

Należy podkreślić, że pobudzanie komórek tucznych bakteriami lub ich produktami może prowadzić do degranulacji mediatorów performowanych z jednoczesnym tworzeniem cytokin *de novo* [50, 87, 90] lub tylko do pobudzenia syntezy cytokin [129]. I tak wykazano, że LPS powoduje produkcję cytokin bez degranulacji a aktywacja PGN prowadzi zarówno do degranulacji jak i wytwarzania oraz wydzielania cytokin [127, 140].

### 1.3.3 Obrona organizmu

Dzięki swojej zdolności do fagocytozy oraz wydzielaniu różnych mediatorów, komórki tuczne, podobnie jak neutrofile i makrofagi, można zaliczyć do „sił szybkiego reagowania” podczas procesów obrony organizmu przed drobnoustrojami. Już sama fagozytoza może być czynnikiem wzbudzającym sekrecję mediatorów, które wpływają na naczynia krwionośne, ekspresję cząsteczek adhezyjnych, jak również inne komórki zaangażowane w proces zapalny oraz strukturę tkanek. Di Nardo i wsp. [93] uważają, że mastocyty wykazują ekspresję defensyny beta 4 oraz katelicydyny CRAMP u myszy oraz katelicydyny LL-37 u człowieka, czyli peptydów działających przeciwbakteryjnie. Katelicydyna ma właściwości wiązania i neutralizacji LPS. Histamina, PGD2, LTC4, PAF oraz IL-1 (uwalniane w kilka minut po wtargnięciu patogenu lub syntetyzowane do 30 minut po aktywacji mastocyta) powodują rozszerzenie drobnych naczyń krwionośnych i wzrost ich przepuszczalności, co skutkuje spowolnieniem przepływu krwi i ułatwia przyleganie leukocytów do śródbłonna naczyniowego oraz przechodzenie tych komórek z naczyń krwionośnych do tkanek. PGD2 ponadto jest potencjalnym inhibitorem agregacji trombocytów [86]. Również tryptaza – enzym wydzielany przez komórki tuczne, wpływa na rozszerzenie naczyń krwionośnych, a chymaza wraz z tryptazą oraz czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF) zwiększają ich przepuszczalność. IL-1 beta, -3, -5, -8, czynnik wzrostu guza (TGF beta), TNF, PGD2, PAF i tryptaza są chemoatraktantami neutrofilów [21, 65], a IL-1, -8 i TNF stymulują również ich aktywność. TNF jest uwalniany z mastocytów zaraz po wtargnięciu patogenu, jak również syntetyzowany *de novo* [48] i uwrażliwia granulocyty obojętnochłonne na chemotaktyczne działanie beta-defensyny-2 oraz zwiększa ich aktywność bakteriobójczą [58]. Również LTB4 i LTC4 produkowane przez mastocyty mają działanie chemotaktyczne dla neutrofilii. Udowodnili to Malaviya i Abraham w swoim badaniu *in vivo* [71]. IL-1 beta, IL-16, białko chemotaktyczne monocytów-1 (MCP-

1), białko zapalne makrofagów 1-alfa i beta (MIP 1-alfa i beta), TGF beta, TNF i PAF są chemoatraktantami monocytów, a IL-3, -4, -5, -13, -16, MCP-1, MIP-1 alfa, tryptaza, histamina, TGF beta – eozynofilów i limfocytów Th, zaś MCP-1 i IL-8 – granulocytów [22]. Udowodniono również udział mastocytów w angiogenezie. Ziarnistości tych komórek zlokalizowane są w obrębie komórek śródbłonna naczyń krwionośnych [32] i stymulują ich proliferację [86]. W procesie tym uczestniczy histamina poprzez oba swoje receptory – H1 i H2 [124]. Heparyna w badaniach *in vitro* powoduje tworzenie naczyń, natomiast TNF-alfa zarówno hamuje jak i pobudza angiogenezę [41].

#### 1.3.3.1 Fagocytoza bakterii

Dowodzone jest, że mastocyty wykazują zdolność fagocytozy bakterii, wspomagając mechanizmy obronne działające w miejscu wniknięcia drobnoustroju [110]. Fagocytoza zaczyna się od przylegania drobnoustroju do błony komórkowej mastocyta, co może mieć miejsce dzięki:

1. Udziale składowej dopełniacza C3 [113, 114].
2. IgG wiążącej się do komórki tucznej dzięki receptorom dla fragmentu Fc tej immunoglobuliny na błonie mastocyta [14].
3. Fibronektynie [28, 139].
4. Drodze lektynowej z udziałem cząsteczki CD48 [3, 72] i jej ligandu FimH [72, 75].
5. Cząsteczce TLR [33].

Następnie przyłączone bakterie zostają otoczone pseudopodiami i zamknięte w fagosomach. Te z kolei transportowane są do wnętrza komórki, gdzie ulegają połączeniu ze sobą lub z ziarnistościami cytoplazmy. Fagocytoza odbywa się we wnętrzu mastocyta na drodze mechanizmów tlenowych (wybuch tlenu i wytwarzanie reaktywnych form tlenu) [72] i pozatlenowych (enzymy proteolityczne – chymaza i proteaza II) [1].

Endocytoza bakterii nie zawsze prowadzi do ich wewnątrzkomórkowego zabijania [115], co skutkuje powstaniem rezerwuaru żywych patogenów wewnątrz komórek tucznych.

#### 1.3.4 Komórki tuczne a przewlekłe zapalenia okołowierzchołkowe

Torbiele są prawdopodobnie najczęstszą przyczyną niszczenia kości szczęk [99]. Ich wzrost tłumaczy się uruchomieniem mechanizmów wspomnianych w poprzedzającej części pracy, aczkolwiek fenomen ten nie został jeszcze jednoznacznie odkryty. Komórki tuczne są obecne w zapaleniach okołowierzchołkowych, co udowodniono w wielu badaniach [4, 66, 99, 103], choć są one stosunkowo mało liczne w stosunku do innych komórek zapalenia [78]. Rola mastocytów w przebiegu zmian okołowierzchołkowych o charakterze przewlekłym nie jest ostatecznie wyjaśniona. Ziarniniaki są pierwotną formą zapalenia około-

---

wierzchołkowego w stosunku do torbieli. Nie posiadają tak dobrze wykształconej trójwarstwowej torebki łącznotkankowej ani płynu zawartego wewnątrz niej. Jako, że mastocyty przyczyniają się do procesów włóknienia [86] poprzez produkcję kwasu hialuronowego [7] oraz intensyfikują wzrost włókien kolagenowych dzięki efektom działania heparyny [89], można się spodziewać, że będą występowały w większej ilości w strukturach posiadających grubszą ścianę zbudowaną między innymi z tkanki łącznej – a więc w torbielach. Komórki tuczne aktywują również fibroblasty poprzez tryptazę, która stymuluje syntezę ich matrycowego kwasu rybonukleinowego (mRNA) [49].

## **2. CELE PRACY**

Wobec powyższych rozważań nad rolą komórki tucznej w przewlekłych procesach zapalnych toczących się w przyzębiu okołowierchołkowym, cele mojej pracy to:

1. Określenie i porównanie liczby mastocytów w dwóch typach takich zmian – zapaleniach ziarninowych i torbielach .
2. Określenie czy może występować związek pomiędzy liczbą mastocytów a typem zmiany, w której zostały wykazane.
3. Porównanie liczby mastocytów uzyskanej w barwieniu histochemicznym metodą Giemsy i immunohistochemicznym przeciwciałem CD 117.
4. Próba określenia potencjalnej roli mastocytów w przewlekłych zapaleniach okołowierchołkowych.

### 3. MATERIAŁ I METODY

Na przeprowadzone badania uzyskano zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Materiał pobrano od 60 pacjentów. 30 preparatów stanowiły zmiany o charakterze zapalenia ziarninowego – dalej zwane ziarniną zapalną/ziarniniakiem (potwierdzone badaniem histopatologicznym) wyłęczekowane z zębodołów po ekstrakcji zęba (jako część standardowej procedury wykonywanej po usuwaniu zębów martwych) – materiał pochodził od pacjentów Poradni Chirurgii Stomatologicznej przy Katedrze i Klinice Chirurgii Szczerkowo-Twarzowej i Stomatologicznej GUMed (kierownik Prof. dr hab. Adam Włodarkiewicz). Pozostałe 30 to zdiagnozowane histopatologicznie okołowierzchołkowe torbiele zapalne zębopochodne, pochodzące z zasobów Katedry i Zakładu Patomorfologii GUMed (kierownik Prof. dr hab. Wojciech Biernat). Pacjenci, od których pobrano ziarninę zapalną po ekstrakcji zęba, zostali dokładnie poinformowani o celu badania oraz wyrazili pisemną zgodę na wzięcie w nim udziału.

Wśród 60 preparatów, 34 pochodziło od mężczyzn (17 okołowierzchołkowych torbieli zapalnych zębopochodnych, 17 ziarnin zapalnych), 26 od kobiet (13 okołowierzchołkowych torbieli zapalnych zębopochodnych i 13 ziarnin zapalnych). Wiek pacjentów znajdował się w przedziale od 18 do 45 lat (średnia wieku 32,3 lat).

#### 3.1 Badania laboratoryjne

Wszystkie badania laboratoryjne wykonano w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii GUMed (Kierownik: Prof. dr hab. Wojciech Biernat).

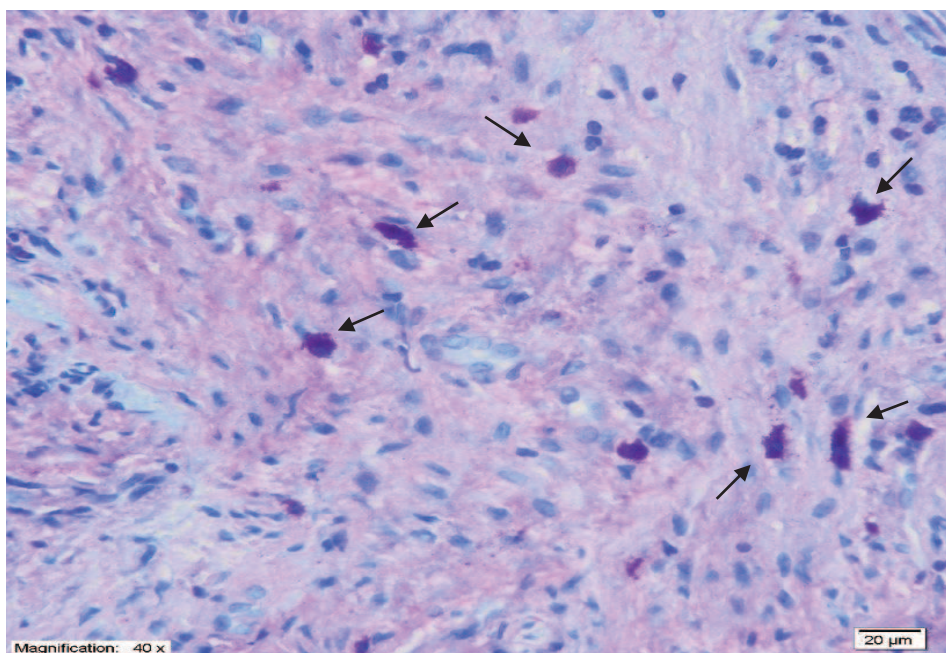
##### 3.1.1 Przygotowanie materiału do badań laboratoryjnych

Materiał do badań został utrwalony w zbuforowanym 10% roztworze formaldehydu i zatopiony w niskotopliwej parafinie. Następnie bloczki parafinowe krojono na mikrotomie saneczkowym (Leica SM 2000 R) na skrawki grubości 4 mikrometrów i nanoszono na szkiełka o podwyższonej adhezyjności. Wszystkie preparaty zostały zabarwione histochemicznie- metodą Giemsy oraz immunohistochemicznie – przeciwciałem CD 117.

##### 3.1.2 Barwienie histochemiczne metodą Giemsy

Skrawki przygotowane w wyżej wymieniony sposób poddano ręcznemu odparafinowaniu, następnie umieszczono w cieplarni w temp. 60° na 24 h. Barwienie wykonano barwnikiem Ventana Giemsa Staining Kit (0,4% modified Giemsa stain, 70% CH<sub>3</sub>OH) w maszynie Nexes Special Stains firmy Ventana. Za mastocyty uznawano duże komórki z jądrem oraz wybarwionymi na fioleto-

wo/fioletowo-różowo ziarnistościami wokół. Komórek dających niejednoznaczny obraz mikroskopowy nie włączano do analizy, rycina 5.



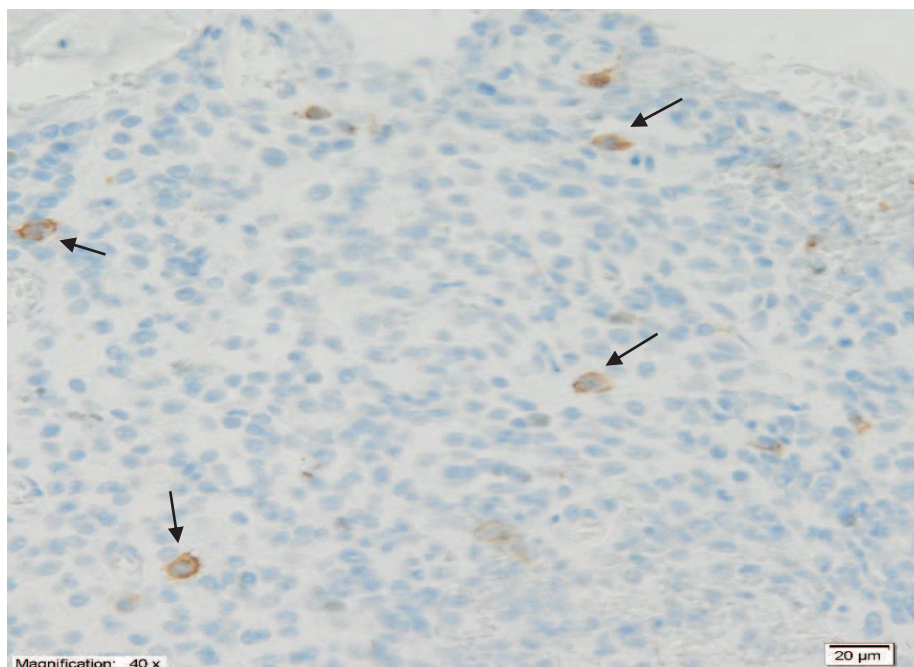
Rycina 5. Komórka tuczna w barwieniu metodą Giemsa

*Figure 5. Mast cell in Giemsa staining*

### 3.1.3 Barwienie immunohistochemiczne przeciwciałem CD 117

Po inkubacji skrawków w cieplarni w temp. 36°C przez 24 godziny, odsłaniano antygen w urządzeniu PT LINK firmy Dako w roztworze Target Retrieval Solution LOW pH – 6,0 przez 1,5 godziny. Następnie wykonano barwienie przeciwciałem CD 117 – Polyclonal Rabbit Anti-Human c-kit firmy Dako w maszynie AUTOSTAINER Link 48 firmy Dako. Za mastocyty uznawano duże komórki z jądrem wybarwione na kolor brązowy/jasnobrązowy. Komórek dających niejednoznaczny obraz mikroskopowy nie włączano do analizy, rycina 6.

Po wykonaniu obydwu barwień, otrzymano 120 preparatów – 60 w barwieniu Giemsa (30 ziarnin zapalnych oraz 30 torbieli zapalnych zębopochodnych), 60 w barwieniu przeciwciałem CD 117 (30 ziarnin zapalnych, 30 torbieli zapalnych zębopochodnych).



Rycina 6. Komórka tuczna w barwieniu przeciwciałem CD 117

Figure 6. Mast cell in CD 117 antibody staining

### 3.2 Ocena mikroskopowa

Preparaty oglądano pod mikroskopem firmy Olympus CX 41 w powiększeniu 400-krotnym. W każdym preparacie, zarówno w barwieniu metodą Giemsy, jak i przeciwciałem CD 117 wyodrębniono po 3 pola o dużym zagęszczeniu komórek, tak zwane „hot spots”. Każde takie pole podzielono na 4 identyczne pola widzenia o średnicy równej 0,55 mm, wyliczonej ze wzoru:

$$d = FN/M_{obj}[\text{mm}]$$

gdzie :

d – średnica pola widzenia

FN – numer pola (*ang. field number*) = 22 (co opisane jest w specyfikacji mikroskopu)

$M_{obj}$  – powiększenie obiektywu = 40

Powierzchnia pola widzenia wynosiła w przybliżeniu  $0,24 \text{ mm}^2$ , obliczona ze wzoru pola koła:

$$P = \pi r^2$$

gdzie:

P – powierzchnia pola

r – promień = 0,275 mm<sup>2</sup>

Liczono mastocyty w każdym z 4 pól widzenia w każdym hot spocie, łącznie 360 hot spotów (180 w preparatach torbieli; 90 w barwieniu metodą Giemsy, 90 w barwieniu przeciwciałem CD 117), 180 w preparatach ziarnin; (90 w barwieniu metodą Giemsy, 90 w barwieniu przeciwciałem CD 117); 1440 pól widzenia (720 w preparatach torbieli: 360 w barwieniu metodą Giemsy, 360 w barwieniu przeciwciałem CD 117; 720 w preparatach ziarnin: 360 w barwieniu metodą Giemsy, 360 w barwieniu przeciwciałem CD 117). Dane te zawarto w tabeli 5 i 6.

**Tabela 5. Obrazy mikroskopowe w barwieniu Giemsy i przeciwciałem CD 117 – ziarniniaki okołowierzchołkowe**

*Tabela 5. Microscopic views in Giemsa and CD 117 antibody staining – periapical granulomas*

|   | <b>Ziarniniaki okołowierzchołkowe</b><br><i>Periapical granulomas</i> |  |  |
|---|---|--|--|
|   | Ogółem<br><i>General</i>  | Barwienie Giemsy<br><i>Giemsa staining</i> | Barwienie przeciwciałem<br>CD 117<br><i>CD 117 antibody staining</i> |
| <b>Liczba hot spots</b><br><i>Number of hot spots</i>         | 180   | 90   | 90   |
| <b>Liczba pól widzenia</b><br><i>Number of fields of view</i> | 720   | 360  | 360  |

**Tabela 6. Obrazy mikroskopowe w barwieniu Giemsy i przeciwciałem CD 117- torbiele okołowierzchołkowe zapalne**

*Tabela 6. Microscopic views in Giemsa and CD 117 antibody staining – periapical cysts*

|   | <b>Torbiele zębopochodne zapalne</b><br><i>Dental periapical inflammatory cysts</i> |  |  |
|---|---|--|--|
|   | Ogółem<br><i>General</i>  | Barwienie Giemsy<br><i>Giemsa staining</i> | Barwienie przeciwciałem<br>CD 117<br><i>CD 117 antibody staining</i> |
| <b>Liczba hot spots</b><br><i>Number of hot spots</i>         | 180   | 90   | 90   |
| <b>Liczba pól widzenia</b><br><i>Number of fields of view</i> | 720   | 360  | 360  |



### **3.3 Analiza statystyczna**

Obliczenia wykonano przy pomocy programu Statistica 9.0 (StatSoft) oraz arkusza kalkulacyjnego Microsoft Excel 2013. W opisie statystycznym danych ilościowych posłużono się klasycznymi miarami położenia jak średnia arytmetyczna i mediana, oraz odchyleniem standardowym i rozstępem jako ogólnymi miarami zmienności. Przy porównaniu dwóch grup dla danych ilościowych posłużono się testem U Manna-Whitneya ze względu na niską liczbę odmian cechy. We wszystkich testach statystycznych za poziom statystycznej istotności różnic przyjęto  $p < 0,05$ .

## 4. WYNIKI

### 4.1 Analiza ogólna

Niezależnie od metody barwienia, liczba mastocytów była średnio około 3 razy większa w przypadku torbieli niż ziarnin (2,92 raza większa przy barwieniu metodą Giemsa; 3,14 raza większa przy barwieniu CD 117). W barwieniu przeciwciałem CD 117 liczba mastocytów była średnio około 2 razy większa niż w barwieniu Giemsa (1,88 raza w grupie ziarnin, 2,02 raza w grupie torbieli), tabela 7.

Tabela 7. Średnia liczba mastocytów w zależności od zmiany zapalnej oraz metody barwienia

Tabela 7. Average number of mast cells depending on periapical lesion and staining method

| Rodzaj barwienia<br><i>Staining method</i> | Ziarniniaki okołowierzchołkowe<br><i>Periapical Granulomas</i> | Torbiele zapalne zębopochodne<br><i>Periapical inflammatory cysts</i> | Odchylenie standardowe<br><i>Standard deviation</i> |
|--|--|---|---|
| Giemsa                                     | 3,15   | 9,19  | 6,77  |
| CD 117                                     | 5,92   | 18,60   | 13,73   |

### 4.2 Analiza wyników uzyskanych w torbielach zapalnych zębopochodnych

#### 4.2.1 Analiza wyników uzyskanych w hot spotach w barwieniu Giemsa

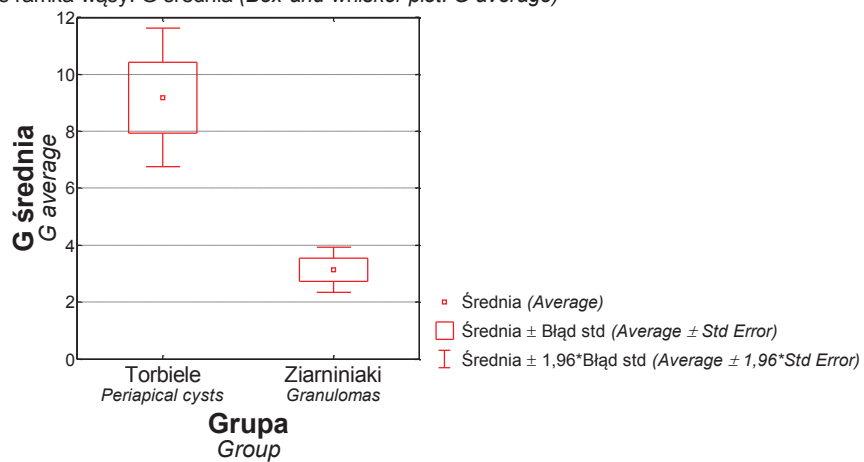
Średnia liczba mastocytów uzyskana ze wszystkich trzech hot spotów torbieli zapalnych zębopochodnych w barwieniu Giemsa (G średnia) wynosiła 9,19 (rycina 7), z czego w hot spocie 1 (G średnia HS1) wynosiła 10,97 (rycina 8), w HS2 (G średnia HS2) 8,63 (rycina 9), w HS3 (G średnia HS3) 7,96 (rycina 10). Zestawienie to zawiera tabela 8.

Tabela 8. Średnia liczba mastocytów w hot spotach w barwieniu Giemsa – torbiele okołowierzchołkowe zapalne

Tabela 8. Average number of mast cells in hot spots in Giemsa staining – dental periapical inflammatory cysts

| Torbiele zapalne zębopochodne w barwieniu Giemsa<br><i>Dental periapical inflammatory cysts in Giemsa staining</i> | Średnia liczba mastocytów<br><i>Average number of mast cells</i> | Odchylenie standardowe<br><i>Standard deviation</i> |
|--|--|---|
| HS 1   | 10,97  | 9,53  |
| HS 2   | 8,63   | 6,19  |
| HS 3   | 7,96   | 6,09  |
| HS 1 + HS 2 + HS 3   | 9,19   | 6,77  |

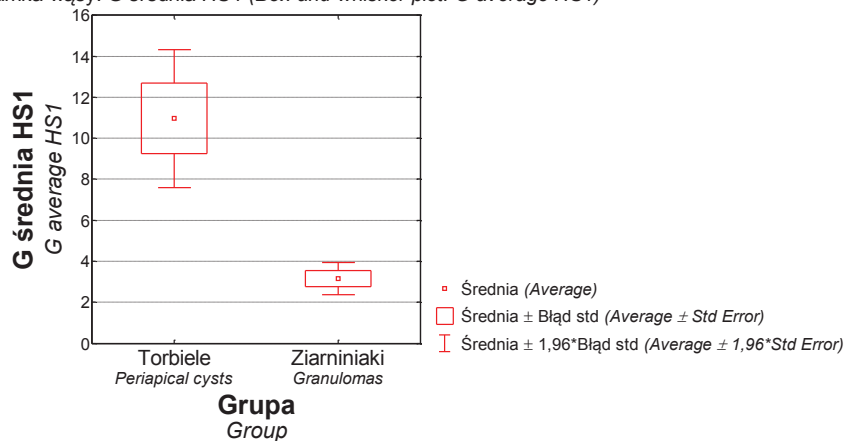
Wykres ramka-wąsy: G średnia (Box-and-whisker plot: G average)



Rycina 7. Średnia liczba mastocytów z 3 hot spotów w barwieniu Giemsy

Figure 7. Average number of mast cells from 3 hot spots in Giemsa staining

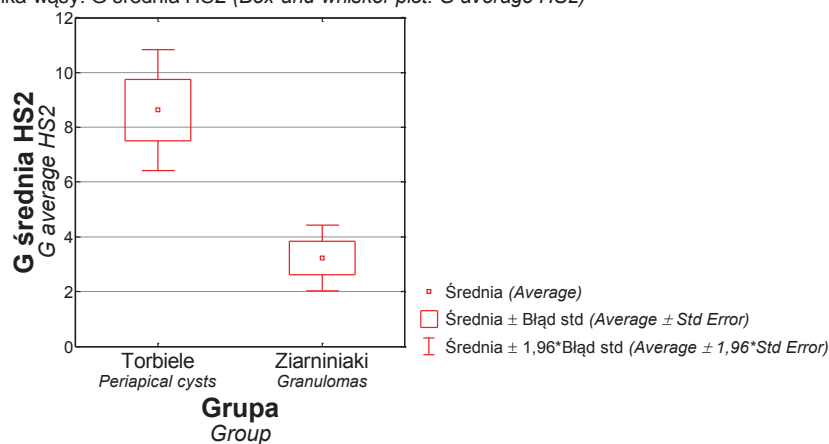
Wykres ramka-wąsy: G średnia HS1 (Box-and-whisker plot: G average HS1)



Rycina 8. Średnia liczba mastocytów w HS1 w barwieniu Giemsy

Figure 8. Average number of mast cells in HS1 in Giemsa staining

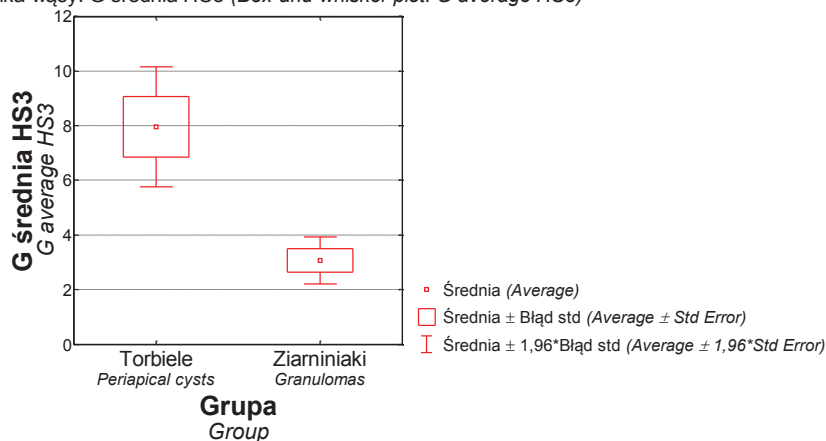
Wykres ramka-wąsy: G średnia HS2 (Box-and-whisker plot: G average HS2)



Rycina 9. Średnia liczba mastocytów w HS2 w barwieniu Giemsa

Figure 9. Average number of mast cells in HS2 in Giemsa staining

Wykres ramka-wąsy: G średnia HS3 (Box-and-whisker plot: G average HS3)



Rycina 10. Średnia liczba mastocytów w HS3 w barwieniu Giemsa

Figure 10. Average number of mast cells in HS3 in Giemsa staining

Maksymalna łączna liczba mastocytów w tym barwieniu w jednym preparacie z trzech hot spotów wynosiła 360, minimalna łączna liczba to 20; maksymalna łączna liczba mastocytów w jednym hot spocie (30 preparatów) wynosiła 174, min łączna 2, tabela 9.

**Tabela 9. Maksymalna i minimalna łączna liczba mastocytów w hot spotach w barwieniu Giemsy – torbiele okołowierzchołkowe zapalne**

*Tabela 9. Maximum and minimum collective number of mast cells in hot spots in Giemsa staining – dental periapical inflammatory cysts*

| <b>Torbiele zapalne zębopochodne w barwieniu Giemsy</b><br><i>Dental Periapical inflammatory cysts in Giemsa staining</i> |   |  |
|---|---|--|
| <b>Hot spot</b><br><i>Hot spot</i>  | Maksymalna łączna liczba mastocytów<br><i>Maximum collective number of mast cells</i> | Minimalna łączna liczba mastocytów<br><i>Minimum collective number of mast cells</i> |
| HS 1<br>(30 preparatów)<br><i>HS 1</i><br>(30 specimens)  | 174   | 7  |
| HS 2<br>(30 preparatów)<br><i>HS 2</i><br>(30 specimens)  | 102   | 2  |
| HS 3<br>(30 preparatów)<br><i>HS 3</i><br>(30 specimens)  | 91  | 6  |
| HS 1+ HS 2+HS 3<br>(w pojedynczym preparacie)<br><i>HS 1+HS 2+HS 3</i><br>(in a single specimen)                          | 360   | 20   |

#### 4.2.2 Analiza wyników uzyskanych w hot spotach w barwieniu przeciwciałem CD117

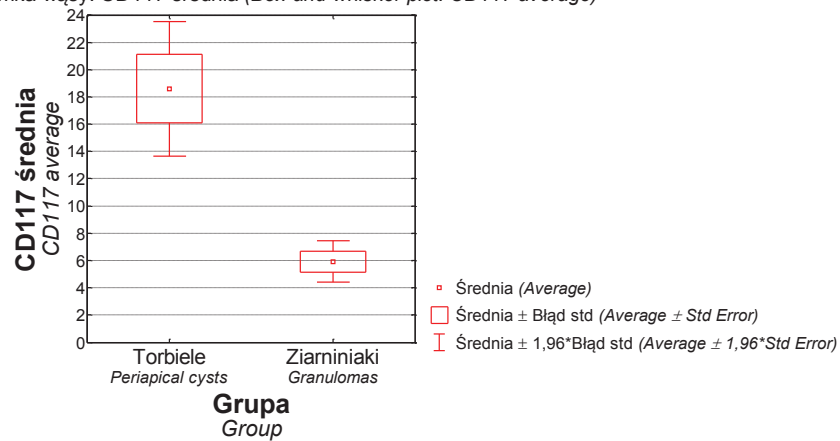
Średnia liczba mastocytów uzyskana ze wszystkich trzech hot spotów torbiele zapalnych zębopochodnych w barwieniu CD 117 (CD 117 średnia) wynosiła 18,60 (rycina 11), z czego w HS1(CD 117 średnia HS1) wynosiła 18,39 (rycina 12), w HS2 (CD 117 średnia HS2) 17,88 (rycina 13), w HS3 (CD 117 średnia HS3) 19,53 (rycina 14). Zestawienie tych danych zawiera tabela 10.

**Tabela 10. Średnia liczba mastocytów w hot spotach w barwieniu CD 117 – torbiele okołowierzchołkowe zapalne**

*Tabela 10. Average number of mast cells in hot spots in CD 117 antibody staining – dental periapical inflammatory cysts*

| <b>Torbiele zapalne zębopochodne w barwieniu CD 117</b><br><i>Dental Periapical inflammatory cysts in CD 117 antibody staining</i> | <b>Średnia liczba mastocytów</b><br><i>Average number of mast cells</i> | <b>Odchylenie standardowe</b><br><i>Standard deviation</i> |
|--|---|--|
|  |   |  |

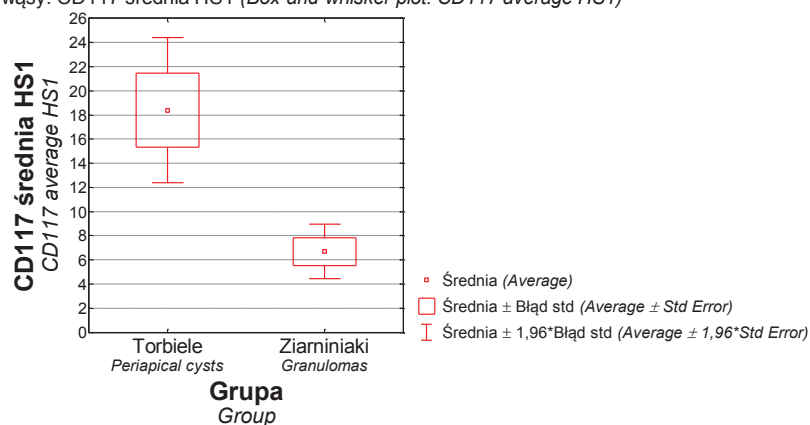
| Torbiele zapalne zębopochodne w barwieniu CD 117<br><i>Dental Periapical inflammatory cysts in CD 117 antibody staining</i> | Średnia liczba mastocytów<br><i>Average number of mast cells</i> | Odchylenie standardowe<br><i>Standard deviation</i> |
|---|--|---|
| HS 1<br><i>HS 1</i>   | 18,39  | 16,85   |
| HS 2<br><i>HS 2</i>   | 17,88  | 12,12   |
| HS 3<br><i>HS 3</i>   | 19,53  | 14,86   |
| HS 1+HS 2 + HS 3<br><i>HS 1 + HS 2 + HS 3</i>   | 18,60  | 13,73   |

Wykres ramka-wąsy: CD117 średnia (*Box-and-whisker plot: CD117 average*)

Rycina 11. Średnia liczba mastocytów z 3 hot spotów w barwieniu CD 117

Figure 11. Average number of mast cells in 3 hot spots in CD 117 antibody staining

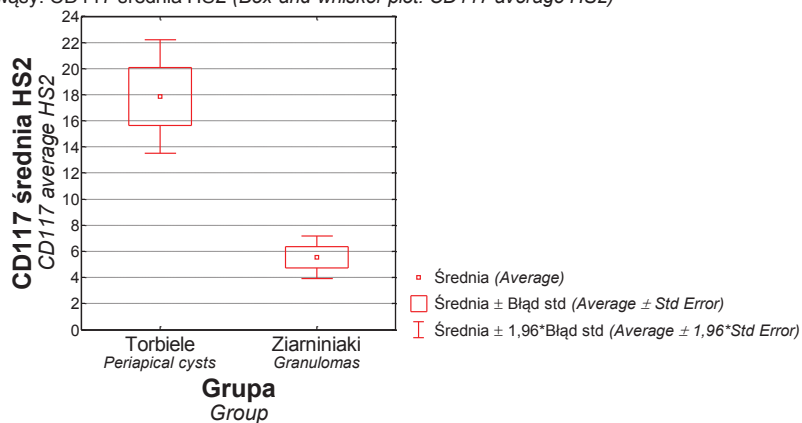
Wykres ramka-wąsy: CD117 średnia HS1 (Box-and-whisker plot: CD117 average HS1)



Rycina 12. Średnia liczba mastocytów w HS1 w barwieniu CD 117

Figure 12. Average number of mast cells in HS1 in CD 117 antibody staining

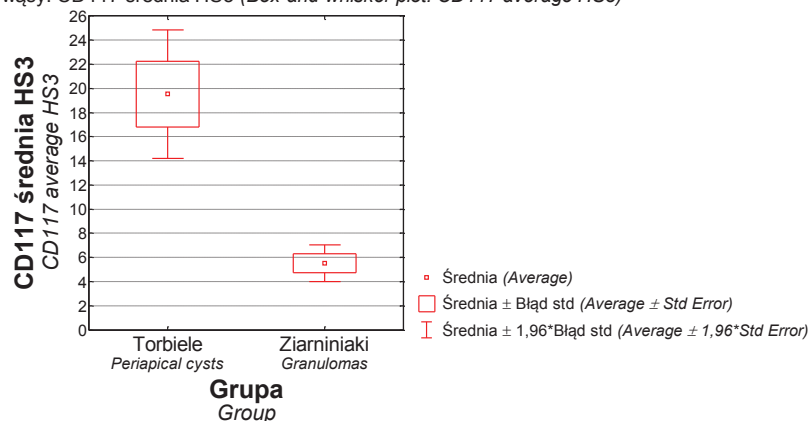
Wykres ramka-wąsy: CD117 średnia HS2 (Box-and-whisker plot: CD117 average HS2)



Rycina 13. Średnia liczba mastocytów w HS2 w barwieniu CD 117

Figure 13. Average number of mast cells in HS2 in CD 117 antibody staining

Wykres ramka-wąsy: CD117 średnia HS3 (Box-and-whisker plot: CD117 average HS3)



Rycina 14 Średnia liczba mastocytów w HS3 w barwieniu CD 117

Figure 14 Average number of mast cells in HS3 in CD 117 antibody staining

Maksymalna łączna liczba mastocytów w pojedynczym preparacie tym barwieniu z trzech hot spotów wynosiła 837, minimalna łączna liczba to 16; maksymalna łączna liczba mastocytów w jednym hot spocie (30 preparatów) wynosiła 363, min łączna 1, tabela 11.

Tabela 11. Maksymalna i minimalna łączna liczba mastocytów w barwieniu CD 117 – torbiele okołowierzchołkowe zapalne

Tabela 11. Maximum and minimum collective number of mast cells in CD 117 antibody staining – dental periapical inflammatory cysts

| Torbiele zapalne zębopochodne w barwieniu przeciwciałem CD 117<br>Dental periapical inflammatory cysts in CD 117 antibody staining |  |   |
|--|--|---|
| Hot spot<br>Hot spot   | Maksymalna łączna liczba mastocytów<br>Maximum collective number of mast cells | Minimalna łączna liczba mastocytów<br>Minimum collective number of mast cells |
| HS 1<br>(30 preparatów)<br>HS 1<br>(30 specimens)  | 363  | 6   |
| HS 2<br>(30 preparatów)<br>HS 2<br>(30 specimens)  | 235  | 9   |
| HS 3<br>(30 preparatów)<br>HS 3<br>(30 specimens)  | 248  | 1   |



| <b>Torbiele zapalne zębopochodne w barwieniu przeciwciałem CD 117</b><br><i>Dental periapical inflammatory cysts in CD 117 antibody staining</i> |  |   |
|--|--|---|
| <b>Hot spot</b><br><i>Hot spot</i>   | <b>Maksymalna łączna liczba mastocytów</b><br><i>Maximum collective number of mast cells</i> | <b>Minimalna łączna liczba mastocytów</b><br><i>Minimum collective number of mast cells</i> |
| <b>HS 1 + HS 2 + HS 3</b><br>(w pojedynczym preparacie)<br><i>HS 1 + HS 2 + HS 3</i><br>( <i>in a single specimen</i> )                          | 837  | 16  |

#### 4.2.3 Analiza wyników uzyskanych w polach widzenia w barwieniu Giemsy.

Maksymalna liczba mastocytów w jednym polu widzenia wynosiła 52, minimalna 0 – zaobserwowana w 34 polach widzenia, tabela 12.

Tabela 12. Liczba mastocytów w polach widzenia barwieniu Giemsy – torbiele okołowierchołkowe zapalne

*Tabele 12. Mast cells number in fields of view – Giemsa staining – dental periapical inflammatory cysts*

| <b>Torbiele zapalne zębopochodne w barwieniu Giemsy</b><br><i>Dental periapical inflammatory cysts in Giemsa staining</i> |   |   |  |   |
|---|---|---|--|---|
| <b>Hot spot</b><br><i>Hot spot</i>  | <b>Pole widzenia (30 preparatów)</b><br><i>Field of view (30 specimens)</i> | <b>Średnia l. mastocytów</b><br><i>Average number of mast cells</i> | <b>Maksymalna l. mastocytów</b><br><i>Maximum number of mast cells</i> | <b>Minimalna l. mastocytów</b><br><i>Minimum number of mast cells</i> |
| <b>1</b>  | 1   | 14,73   | 52,00  | 2,00  |
|   | 2   | 10,43   | 49,00  | 0,00  |
|   | 3   | 10,17   | 42,00  | 0,00  |
|   | 4   | 8,53  | 36,00  | 0,00  |
| <b>2</b>  | 1   | 11,50   | 33,00  | 1,00  |
|   | 2   | 7,43  | 22,00  | 0,00  |
|   | 3   | 7,77  | 28,00  | 0,00  |
|   | 4   | 7,83  | 35,00  | 0,00  |
| <b>3</b>  | 1   | 11,70   | 50,00  | 1,00  |
|   | 2   | 6,27  | 22,00  | 0,00  |
|   | 3   | 6,90  | 40,00  | 0,00  |
|   | 4   | 6,97  | 27,00  | 0,00  |

#### 4.2.4 Analiza wyników uzyskanych w polach widzenia w barwieniu przeciwciałem CD 117

Maksymalna liczba mastocytów w polu widzenia wynosiła 101, minimalna 0 – zaobserwowana w 13 polach widzenia, tabela 13.

**Tabela 13. Liczba mastocytów w polach widzenia w barwieniu CD 117 – torbiele okołowierzchołkowe zapalne**

*Tabela 13. Mast cells number in fields of view –CD 117 antibody staining – dental periapical inflammatory cysts*

| <b>Torbiele zapalne zębopochodne w barwieniu CD 117</b><br><i>Periapical dental inflammatory cysts in CD 117 antibody staining</i> |   |   |  |   |
|--|---|---|--|---|
| <b>Hot spot</b><br><i>Hot spot</i>   | <b>Pole widzenia</b><br><b>(30 preparatów)</b><br><i>Field of view (30 specimens)</i> | <b>Średnia l. mastocytów</b><br><i>Average number of mast cells</i> | <b>Maksymalna l. mastocytów</b><br><i>Maximum number of mast cells</i> | <b>Minimalna l. mastocytów</b><br><i>Minimum number of mast cells</i> |
| <b>1</b>   | 1   | 21,57   | 99,00  | 1,00  |
|  | 2   | 20,03   | 100,00   | 1,00  |
|  | 3   | 15,53   | 76,00  | 0,00  |
|  | 4   | 16,43   | 88,00  | 0,00  |
| <b>2</b>   | 1   | 23,37   | 63,00  | 4,00  |
|  | 2   | 15,73   | 72,00  | 0,00  |
|  | 3   | 14,13   | 55,00  | 0,00  |
|  | 4   | 18,27   | 51,00  | 0,00  |
| <b>3</b>   | 1   | 24,47   | 77,00  | 1,00  |
|  | 2   | 21,53   | 101,00   | 0,00  |
|  | 3   | 16,07   | 88,00  | 0,00  |
|  | 4   | 16,03   | 46,00  | 0,00  |

### **4.3 Analiza wyników uzyskanych w ziarninach zapalnych**

#### **4.3.1 Analiza wyników uzyskanych w hot spotach w barwieniu Giemsy**

Średnia liczba mastocytów uzyskana ze wszystkich trzech hot spotów z ziarnin zapalnych w barwieniu Giemsy (G średnia) wynosiła 3,15 (rycina 7), z czego w HS1 (G średnia HS1) 3,16 (rycina 8), HS2 (G średnia HS2) 3,23 (rycina 9), HS3 6,73 (G średnia HS3) (rycina 10). Zestawienie tych danych zawiera tabela 14.

Tabela 14. Średnia liczba mastocytów w barwieniu Giemsa – ziarniniaki okołowierzchołkowe

*Tabele 14. Average number of mast cells in Giemsa staining – periapical granulomas*

| Ziarniniaki okołowierzchołkowe w barwieniu Giemsa<br><i>Periapical granulomas in Giemsa staining</i> | Średnia liczba mastocytów<br><i>Average number of mast cells</i> | Odchylenie standardowe<br><i>Standard deviation</i> |
|--|--|---|
| HS 1<br><i>HS 1</i>  | 3,16   | 2,10  |
| HS 2<br><i>HS 2</i>  | 3,23   | 3,29  |
| HS 3<br><i>HS 3</i>  | 6,73   | 5,44  |
| HS 1 + HS 2 + HS 3<br><i>HS 1 + HS 2 + HS 3</i>  | 3,15   | 2,22  |

Maksymalna łączna liczba mastocytów w pojedynczym preparacie tym barwieniu w trzech hot spotach wynosiła 108, minimalna łączna liczba to 12; maksymalna łączna liczba mastocytów w jednym hot spocie (30 preparatów) wynosiła 64, minimalna łączna 0, tabela 15.

Tabela 15. Maksymalna i minimalna łączna liczba mastocytów w barwieniu Giemsa – ziarniniaki okołowierzchołkowe

*Tabele 15. Maximum and minimum collective number of mast cells in Giemsa staining – periapical granulomas*

| Ziarniniaki okołowierzchołkowe w barwieniu Giemsa<br><i>Periapical granulomas in Giemsa staining</i> |   |  |
|--|---|--|
| Hot spot<br><i>Hot spot</i>  | Maksymalna łączna liczba mastocytów<br><i>Maximum collective number of mast cells</i> | Minimalna łączna liczba mastocytów<br><i>Minimum collective number of mast cells</i> |
| HS 1<br>(30 preparatów)<br><i>HS 1</i><br>(30 specimens)   | 39  | 2  |
| HS 2<br>(30 preparatów)<br><i>HS 2</i><br>(30 specimens)   | 64  | 0  |
| HS 3<br>(30 preparatów)<br><i>HS 3</i><br>(30 specimens)   | 45  | 4  |

| <b>Ziarniniaki okołowierzchołkowe w barwieniu Giemsa</b><br><i>Periapical granulomas in Giemsa staining</i>    |  |   |
|--|--|---|
| <b>Hot spot</b><br><i>Hot spot</i>   | <b>Maksymalna łączna liczba mastocytów</b><br><i>Maximum collective number of mast cells</i> | <b>Minimalna łączna liczba mastocytów</b><br><i>Minimum collective number of mast cells</i> |
| <b>HS 1 + HS 2 + HS 3</b><br>(w pojedynczym preparacie)<br><i>HS 1 + HS 2 + HS 3</i><br>(in a single specimen) | 108  | 12  |

#### 4.3.2 Analiza wyników uzyskanych w hot spotach w barwieniu przeciwciałem CD117

Średnia liczba mastocytów uzyskana ze wszystkich trzech hot spotów z ziarnin zapalnych w barwieniu CD 117 (CD 117 średnia) wynosiła 5,92 (rycina 11), z czego w HS1 (CD 117 średnia HS1), 6,69 (rycina 12), HS2 5,55 (CD 117 średnia HS2) (rycina 13), HS3 5,53 (CD 117 średnia HS3) (rycina 14). Zestawienie tych danych zawiera tabela 16.

Tabela 16. Średnia liczba mastocytów w barwieniu przeciwciałem CD 117 – ziarniniaki okołowierzchołkowe

Tabela 16. Average number of mast cells in CD 117 antibody staining – periapical granulomas

| <b>Ziarniniaki okołowierzchołkowe w barwieniu CD 117</b><br><i>Periapical granulomas in CD 117 antibody staining</i> | <b>Średnia liczba mastocytów</b><br><i>Average number of mast cells</i> | <b>Odchylenie standardowe</b><br><i>Standard deviation</i> |
|--|---|--|
| <b>HS 1</b><br><i>HS 1</i>   | 6,69  | 6,35   |
| <b>HS 2</b><br><i>HS 2</i>   | 5,55  | 4,50   |
| <b>HS 3</b><br><i>HS 3</i>   | 5,53  | 4,25   |
| <b>HS 1 + HS 2 + HS 3</b><br><i>HS 1 + HS 2 + HS 3</i>   | 5,92  | 4,24   |

Maksymalna łączna liczba mastocytów w pojedynczym preparacie w tym barwieniu w trzech hot spotach wynosiła 180, minimalna łączna liczba to 12; maksymalna łączna liczba mastocytów w jednym hot spotcie (30 preparatów) wynosiła 67, min. łączna 1, tabela 17.

Tabela 17. Maksymalna łączna liczba mastocytów w barwieniu CD 117 – ziarniniaki okołowierzchołkowe

Tabela 17. *Maximum collective number of mast cells in CD 117 antibody staining- periapical granulomas*

| Ziarniniaki okołowierzchołkowe w barwieniu CD 117<br><i>Periapical granulomas in CD 117 antibody staining</i> |   |  |
|---|---|--|
| Hot spot<br><i>Hot spot</i>   | Maksymalna łączna liczba mastocytów<br><i>Maximum collective number of mast cells</i> | Minimalna łączna liczba mastocytów<br><i>Minimum collective number of mast cells</i> |
| HS 1<br>(30 preparatów)<br><i>HS 1<br/>(30 specimens)</i>   | 40  | 2  |
| HS 2<br>(30 preparatów)<br><i>HS 2<br/>(30 specimens)</i>   | 30  | 1  |
| HS 3<br>(30 preparatów)<br><i>HS 3<br/>(30 specimens)</i>   | 67  | 3  |
| HS 1 + HS 2 + HS 3<br>(w pojedynczym preparacie)<br><i>HS 1 + HS 2 + HS 3<br/>(in single specimen)</i>        | 180   | 12   |

#### 4.3.3 Analiza wyników uzyskanych w polach widzenia w barwieniu Giemsy

Maksymalna liczba mastocytów wynosiła 24, minimalna 0 – odnotowana w 60 polach widzenia, tabela 18.

Tabela 18. Liczba mastocytów w polach widzenia w barwieniu Giemsa – ziarniniaki okołowierzchołkowe

Tabela 18. *Mast cells number in fields of view in Giemsa staining – periapical granulomas*

| Ziarniniaki okołowierzchołkowe w barwieniu Giemsa<br><i>Periapical granulomas in Giemsa staining</i> |   |  |   |  |
|--|---|--|---|--|
| Hot spot<br><i>Hot spot</i>  | Pole widzenia<br>(30 preparatów)<br><i>Field of view<br/>(30 specimens)</i> | Średnia l. mastocytów<br><i>Average number of mast cells</i> | Maksymalna l. mastocytów<br><i>Maximum number of mast cells</i> | Minimalna l. mastocytów<br><i>Minimum number of mast cells</i> |
| 1  | 1   | 4,60   | 12,00   | 0,00   |
|  | 2   | 2,43   | 10,00   | 0,00   |
|  | 3   | 2,70   | 11,00   | 0,00   |
|  | 4   | 2,90   | 13,00   | 0,00   |

| <b>Ziarniniaki okółwierzchołkowe w barwieniu Giemsa</b><br><i>Periapical granulomas in Giemsa staining</i> |   |   |  |   |
|--|---|---|--|---|
| <b>Hot spot</b><br><i>Hot spot</i>   | <b>Pole widzenia</b><br><b>(30 preparatów)</b><br><i>Field of viwe</i><br><i>(30 specimens)</i> | <b>Średnia l. mastocytów</b><br><i>Average number of mast cells</i> | <b>Maksymalna l. mastocytów</b><br><i>Maximum number of mast cells</i> | <b>Minimalna l. mastocytów</b><br><i>Minimum number of mast cells</i> |
| 2  | 1   | 3,67  | 12,00  | 0,00  |
|  | 2   | 3,03  | 22,00  | 0,00  |
|  | 3   | 3,03  | 15,00  | 0,00  |
|  | 4   | 3,20  | 20,00  | 0,00  |
| 3  | 1   | 3,83  | 14,00  | 0,00  |
|  | 2   | 2,70  | 11,00  | 0,00  |
|  | 3   | 2,17  | 15,00  | 0,00  |
|  | 4   | 3,57  | 24,00  | 0,00  |

#### 4.3.4 Analiza wyników uzyskanych w polach widzenia w barwieniu przeciwciałem CD 117

Maksymalna liczba mastocytów w polu widzenia wynosiła 40, minimalna – 0 – odnotowana w 34 polach widzenia, tabela 19.

**Tabela 19. Liczba mastocytów w polach widzenia w barwieniu CD 117 – ziarniny okółwierzchołkowe**

*Tabele 19. Mast cells number in fields of view in CD 117 antibody staining – periapical granulomas*

| <b>Ziarniniaki okółwierzchołkowe w barwieniu CD 117</b><br><i>Periapical granulomas in CD 117 staining</i> |   |   |  |   |
|--|---|---|--|---|
| <b>Hot spot</b><br><i>Hot spot</i>   | <b>Pole widzenia</b><br><b>(30 preparatów)</b><br><i>Field of viwe</i><br><i>(30 specimens)</i> | <b>Średnia l. mastocytów</b><br><i>Average number of mast cells</i> | <b>Maksymalna l. mastocytów</b><br><i>Maximum number of mast cells</i> | <b>Minimalna l. mastocytów</b><br><i>Minimum number of mast cells</i> |
| 1  | 1   | 7,87  | 29,00  | 2,00  |
|  | 2   | 6,73  | 34,00  | 0,00  |
|  | 3   | 7,00  | 39,00  | 0,00  |
|  | 4   | 5,17  | 40,00  | 0,00  |
| 2  | 1   | 5,50  | 14,00  | 0,00  |
|  | 2   | 6,73  | 30,00  | 0,00  |
|  | 3   | 5,23  | 26,00  | 0,00  |
|  | 4   | 4,73  | 18,00  | 0,00  |
| 3  | 1   | 7,10  | 21,00  | 1,00  |
|  | 2   | 4,60  | 16,00  | 0,00  |
|  | 3   | 5,37  | 20,00  | 0,00  |
|  | 4   | 5,03  | 17,00  | 0,00  |

**Tabela 20. Porównanie maksymalnej i minimalnej liczby mastocytów w polach widzenia w poszczególnych barwieniach**

*Tabela 20. Comparison of maximum and minimum number of mast cells in fields of view in particular staining methods*

|   | <b>Barwienie Giemsy</b><br><i>Giemsa staining</i>                     | <b>Barwienie CD 117</b><br><i>CD 117 antibody staining</i>            |
|---|---|---|
| <b>Torbiele zębopochodne zapalne</b><br><i>Dental periapical inflammatory cysts</i> | Maks. – 52<br><i>Max. – 52</i>  | Maks. – 101<br><i>Max. – 101</i>                                      |
|   | Min. – 0 w 34 polach widzenia<br><i>Min. – 0 in 34 fields of view</i> | Min. – 0 w 13 polach widzenia<br><i>Min. – 0 in 13 fields of view</i> |
| <b>Ziarniniaki okołowierzchołkowe</b><br><i>Periapical granulomas</i>               | Maks. – 24<br><i>Max. – 24</i>  | Maks. – 40<br><i>Max. – 40</i>  |
|   | Min. – 0 w 60 polach widzenia<br><i>Min. – 0 in 60 fields of view</i> | Min. – 0 w 34 polach widzenia<br><i>Min. – 0 in 34 fields of view</i> |

**Tabela 21. Porównanie maksymalnej łącznej i minimalnej łącznej liczby mastocytów w zsumowanych 3 HS w poszczególnych barwieniach**

*Tabela 21. Comparison of maximum and minimum collective number of mast cells in 3 summed up hot spots in particular staining methods*

|   | <b>Barwienie Giemsy</b><br><i>Giemsa staining</i> | <b>Barwienie CD 117</b><br><i>CD 117 antibody staining</i> |
|---|---|--|
| <b>Torbiele zębopochodne zapalne</b><br><i>Dental periapical inflammatory cysts</i> | Maks. – 360<br><i>Max. – 360</i>                  | Maks. – 837<br><i>Max. – 837</i>                           |
|   | Min. – 20<br><i>Min. – 20</i>                     | Min. – 16<br><i>Min. – 16</i>                              |
| <b>Ziarniny zapalne</b><br><i>Periapical granulomas</i>                             | Maks. – 108<br><i>Max. – 108</i>                  | Maks. – 180<br><i>Max. – 180</i>                           |
|   | Min. – 12<br><i>Min. – 12</i>                     | Min. – 12<br><i>Min. – 12</i>                              |

Maksymalna łączna liczba mastocytów ze zsumowanych 3 HS w jednym preparacie w barwieniu Giemsy w torbielach wynosiła 360, minimalna 20, podczas, gdy maksymalna łączna liczba mastocytów z 3 HS w tym samym barwieniu w grupie ziarnin wynosiła 108 a minimalna 12 (tabela 21).

Maksymalna łączna liczba mastocytów ze zsumowanych 3 HS w jednym preparacie w barwieniu CD 117 w grupie torbieli wynosiła 837, minimalna 16, podczas gdy maksymalna łączna liczba z 3 HS w jednym preparacie w grupie ziarnin w tym barwieniu wynosiła 180 a minimalna 12 (tabela 21).

Z danych tych wynika, że maksymalna łączna liczba komórek tucznych w grupie torbieli w barwieniu Giemsy jest ponad 3-krotnie większa niż w grupie ziarnin, natomiast minimalna łączna liczba w grupie torbieli jest 1,66-krotnie większa niż minimalna łączna liczba w grupie ziarnin w tym samym barwieniu. Natomiast maksymalna łączna liczba mastocytów w jednym preparacie zsumowana z 3 HS w grupie torbieli jest ponad 2 razy (2,3) większa w barwieniu CD

117 niż Giemsa a minimalna 1,25-krotnie mniejsza w barwieniu CD 117 niż Giemsa.

Maksymalna łączna liczba mastocytów zsumowana z 3 HS w grupie ziarnin w barwieniu CD 117 jest 1,66-krotnie większa niż w barwieniu Giemsa, natomiast minimalna łączna jest identyczna.

Maksymalna liczba mastocytów uzyskana w polach widzenia w barwieniu Giemsa w grupie torbieli wynosiła 52, minimalna 0, zaobserwowana w 34 polach widzenia, podczas gdy maksymalna liczba tych komórek w grupie ziarnin w tym samym barwieniu wynosiła 24 a min 0, odnotowana w 60 polach widzenia, tabela 20.

W barwieniu przeciwciałem CD 117 w grupie torbieli maksymalna liczba mastocytów w polach widzenia wynosiła 101, minimalna 0, odnotowana w 13 polach. Maksymalna liczba komórek tucznych w tym barwieniu w grupie ziarnin wynosiła 40, minimalna 0, odnotowana w 34 polach widzenia (tabela 20).

Wynika z tego, że w grupie torbieli maksymalna liczba mastocytów w polach widzenia była około 2-krotnie większa niż w grupie ziarnin w barwieniu Giemsa, natomiast minimalną zaobserwowano w blisko 2-krotnie (1,77) mniejszej liczbie pól widzenia.

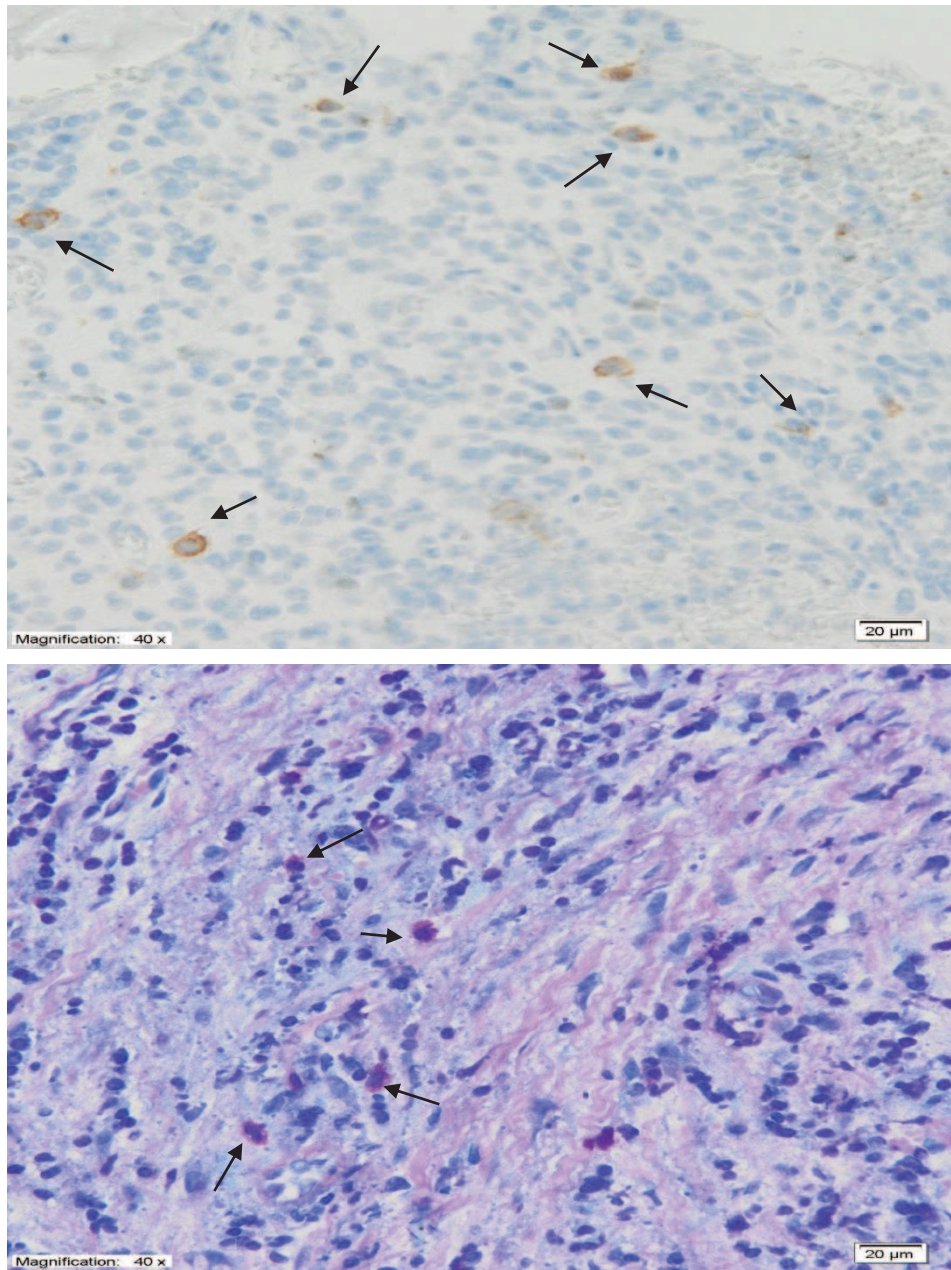
W barwieniu CD 117 w grupie torbieli maksymalna liczba mastocytów odnotowana w polach widzenia była 2,5-krotnie większa niż w grupie ziarnin w tym samym barwieniu, natomiast minimalną liczbę odnotowano w prawie 2-krotnie (2,62) mniejszej liczbie pól widzenia w grupie torbieli niż ziarnin w tym barwieniu.

Maksymalna liczba mastocytów w polach widzenia w grupie torbieli była prawie 2-krotnie (1,9) większa w barwieniu CD 117 niż Giemsa, minimalną liczbę mastocytów odnotowano w około 2,5-krotnie (2,61) mniejszej liczbie pól widzenia w barwieniu CD 117 niż Giemsa.

W grupie ziarnin w barwieniu CD 117 odnotowano 1,7-krotnie większą maksymalną liczbę mastocytów w polach widzenia niż w barwieniu Giemsa, natomiast minimalną liczbę mastocytów stwierdzono w prawie 2-krotnie (1,8) mniejszej liczbie pól widzenia w barwieniu CD 117 niż Giemsa.

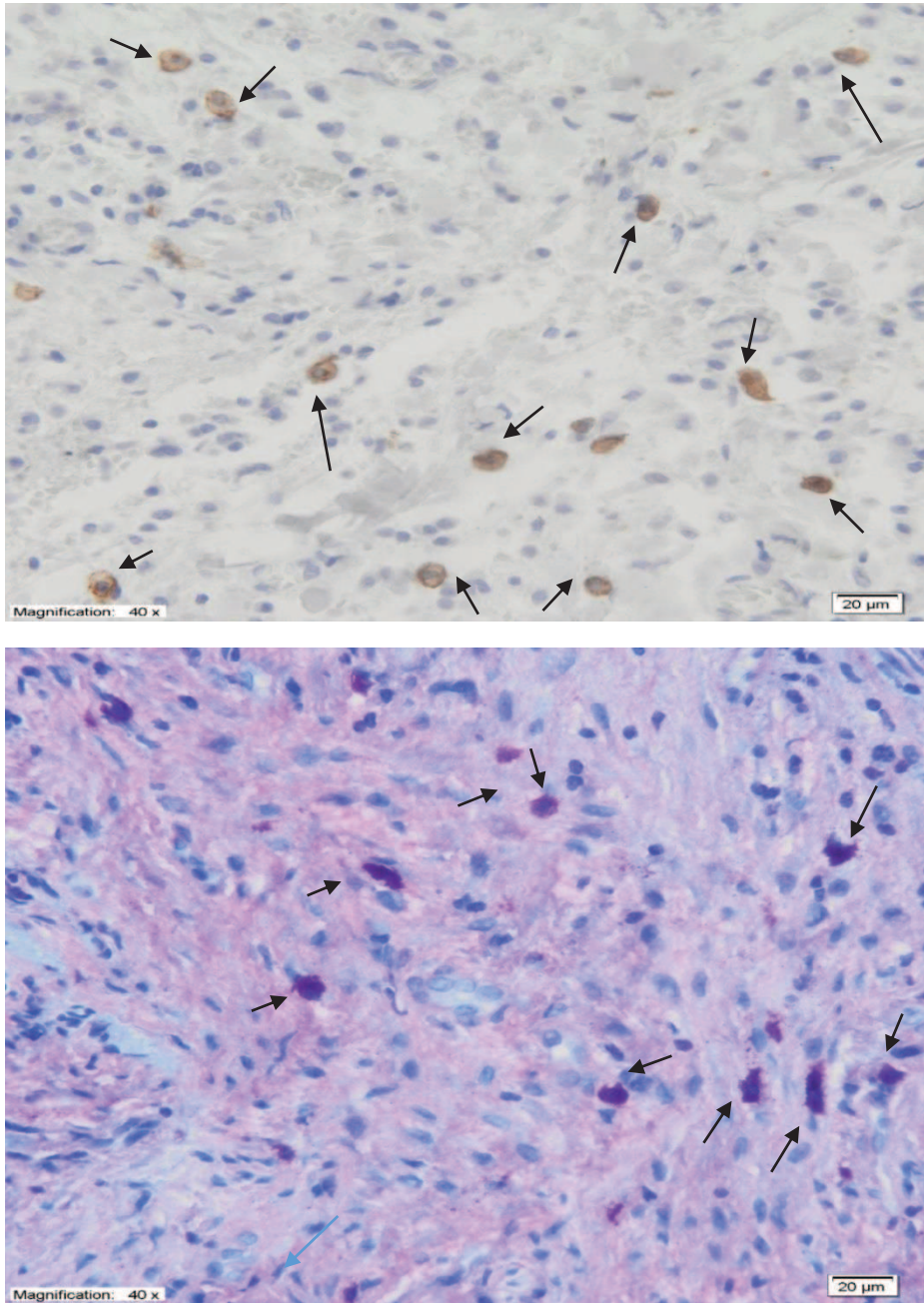
Na rycinie 15 i 16 przedstawiono widoczną różnicę w liczbie widzianych mastocytów w tym samym preparacie w 2 metodach barwieniach.





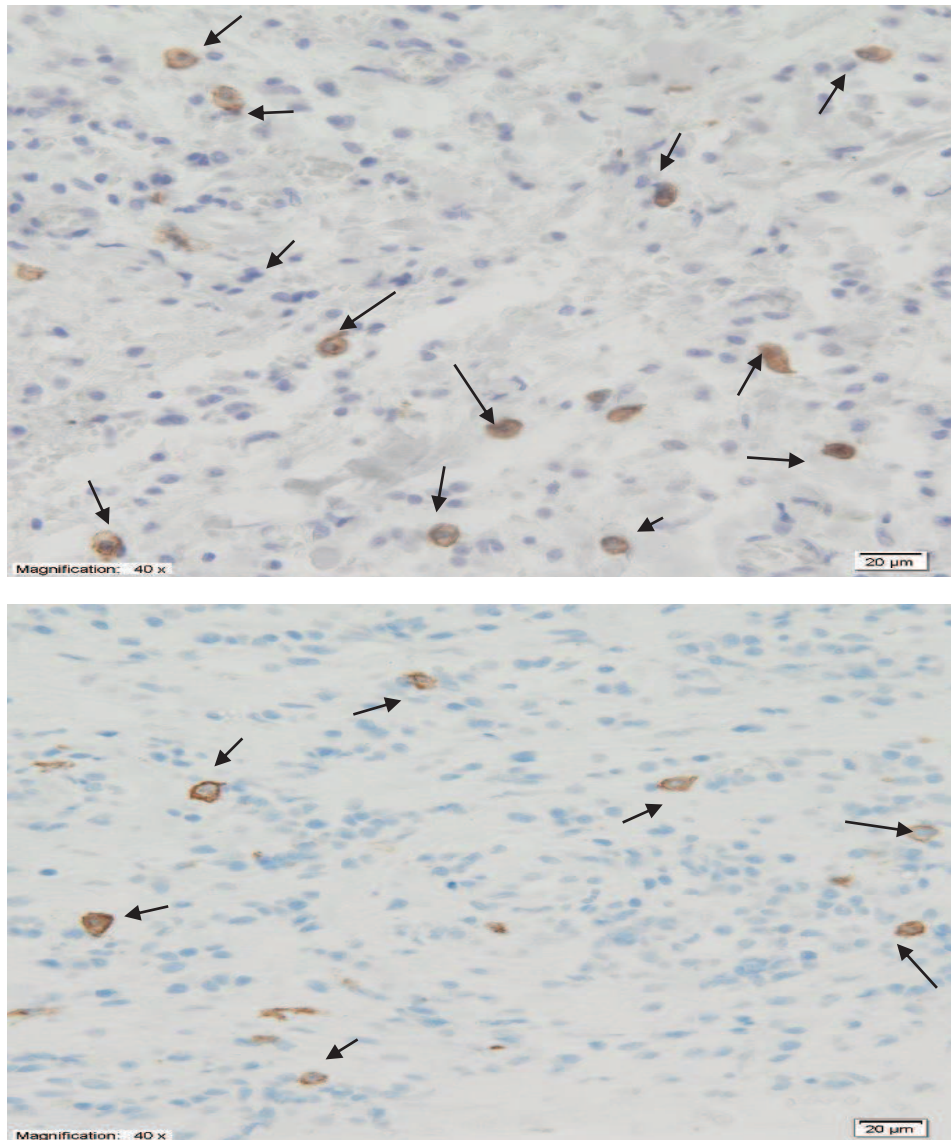
Rycina 15. Preparat ziarniny w barwieniu przeciwciałem CD 117 ( u góry) oraz Giemsy (dół)

*Figure 15. Specimen of periapical granuloma in CD 117 antibody staining (up) and Giemsa staining (down)*



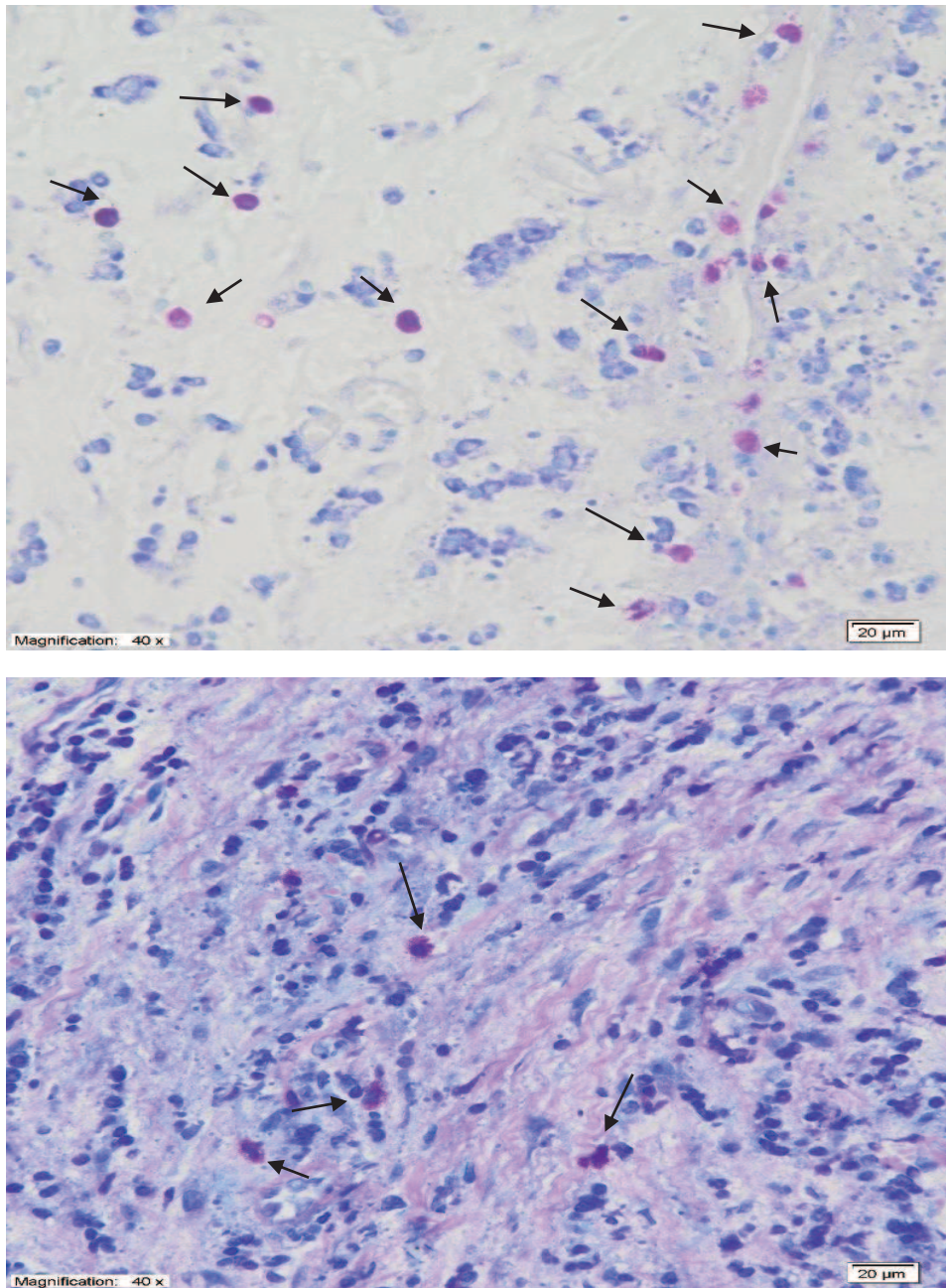
Rycina 16. Preparat torbieli w barwieniu przeciwciałem CD 117 ( góra) i Giemsy (dół)

*Figure 16. Specimen of periapical cyst in CD 117 antibody staining (up) and Giemsa staining (down)*



**Rycina 17. Porównanie bogatokomórkowego preparatu torbieli (górną) i ziarniny (dół) w barwieniu przeciwciałem CD 117**

*Figure 17. Comparison of hypercellular specimen of periapical cyst (up) and granuloma (down) in CD 117 antibody staining*



Rycina 18. Porównanie bogatokomórkowego preparatu torbieli (górną) i ziarniny (dół) w barwieniu Giemsa

*Figure 18. Comparison of hypercellular specimen of periapical cyst (up) and granuloma (down) in Giemsa staining*

## 5. DYSKUSJA

Przewlekłe zapalenia okołowierzchołkowe są stosunkowo często spotykaną patologią wykrywaną w kościach szczęk. Według de Noronha Santos Netto i wsp., torbiele i twory torbielowate są jedną z najczęstszych przyczyn destrukcji kości w tym obszarze [99]. Neville i wsp. [94] podają, że ziarniniaki okołowierzchołkowe stanowią około 75% wszystkich zapalnych patologii okołowierzchołkowych a torbiele 20% według Simona [118]. Z racji częstości występowania tych zmian oraz niepewnego rokowania leczenia zachowawczego lub zachowawczo-chirurgicznego, często są one przedmiotem dyskusji i badań. By dokładniej wniknąć w etiopatogenezę oraz morfologię mikro- i makroskopową tych zmian, zbadano szereg komórek w nich bytujących oraz mechanizmów mogących indukować ich powstawanie. Komórki tuczne, stosunkowo nieliczne w porównaniu z innymi komórkami odpowiedzi zapalnej w zmianach okołowierzchołkowych szczęk, badane były stosunkowo rzadko w porównaniu z innymi komórkami. Stąd też zasadne wydaje się być bliższe określenie ich występowania i potencjalnej roli, jaką mogą pełnić w tego typu zmianach.

### 5.1 Porównanie wyników badań własnych z badaniami innych autorów

W badaniu przeprowadzonym przez autorkę, odnotowano obecność komórek tucznych w 100% badanych preparatów, przy czym średnio 3-krotnie większą liczbę mastocytów w torbielach zapalnych niż w zapaleniach ziarninowych.

Średnio 2 razy więcej tych komórek stwierdzono w barwieniu immunohistochemicznym przeciwciałem CD 117 niż histochemicznym metodą Giemsy.

Przy barwieniu przeciwciałem CD 117 uzyskano 12,3 mastocyta na pole widzenia, w barwieniu Giemszą 6,2 czyli blisko 2 razy więcej komórek było widać w barwieniu immunohistochemicznym. De Noronha Santos i wsp. wykazali średnio 4,1 mastocyta na pole widzenia w barwieniu przeciwciałem przeciwtryptazie w porównaniu do 1,5 mastocyta na pole widzenia w barwieniu błękitem toluidyny [99]. Mniejsza średnia liczba mastocytów na pole widzenia u tych autorów może wynikać z faktu, iż porównywali oni torbiele zapalne zębopochodne oraz torbiele zawiązkowe i keratocysty. Dwie ostatnie zmiany mają niezapalną etiologię, stąd możliwa mniejsza średnia liczba komórek tucznych a autorzy ci wykazali, że w torbielach pochodzenia zapalnego lub powikłanych zapalnie stwierdza się większą liczbę mastocytów niż w torbielach pochodzenia niezapalnego. Jednak z porównania metod barwienia pod względem wykrywalności komórek tucznych jasno wynika, że immunohistochemia jest dokładniejszą metodą niż samo barwienie histochemiczne.

Tego samego zdania jest Bischoff i wsp., którzy uważają, że barwienie histochemiczne wykrywa niezdegranulowane mastocyty, podczas gdy immunohistochemiczne może wykryć częściowo zdegranulowane komórki, które posiadają jeszcze odpowiednią ilość tryptazy [17]. Atkins i wsp. uważają, że barwienie histochemiczne może nie wykrywać niedojrzałych jeszcze komórek tucznych [8]. Biorąc pod uwagę, że barwienia immunohistochemiczne mogą wykrywać zarówno zdegranulowane mastocyty jak i ich niedojrzałe formy, rzeczywiście w obrazie mikroskopowym może być widoczna większa liczba komórek tucznych niż w metodach, które tych form nie wykrywają.

Arber i wsp. stoją na stanowisku, że barwienie mastocytów za pomocą przeciwciała CD 117 daje lepsze wyniki niż za pomocą przeciwciała przeciwtryptazie. Podają oni, że bazofile, podobnie jak komórki tuczne, wydzielają tryptazę, w związku z czym używanie przeciwciała przeciwtryptazie może sprawiać trudności w rozróżnieniu tych dwóch typów komórek [5]. W opozycji do tej opinii są De Noronha Santos i De Oliviera Rodini, którzy do swych badań nad komórkami tucznymi z powodzeniem używali przeciwciała przeciwtryptazie [99, 103].

Należy dodać, że komórki tuczne barwione przeciwciałem CD 117 są znacznie lepiej widoczne i łatwiej rozpoznawalne niż w barwieniu Giemsy. Obraz mikroskopowy mastocytów w barwieniu immunohistochemicznym wydaje się być bardziej „przejrzysty”. Różnice w wyglądzie dwójako barwionego preparatu przedstawiono na rycinie 5 i 6 w rozdziale „Materiał i metody”.

Należy dodać, iż barwienie immunohistochemiczne z samego swojego założenia jest procedurą „celowaną”, wykorzystującą użycie przeciwciała łączącego się z konkretnym „celem”, przez co działającego wybiórczo. Natomiast metody histochemiczne powodują wybarwienie różnych komponentów tkankowych i komórkowych, co jest podstawą do rozpoznania konkretnej struktury, o ustalonym kolorze, wyglądzie, kształcie. Tak więc z założenia barwienie histochemiczne niejako obrazuje różne składowe preparatu, pozwalając badaczowi zinterpretować te składowe.

Podobne do moich badania przeprowadzili Drazic i wsp., Noronha Santos Netto i wsp., de Oliviera Rodini i wsp. oraz inni autorzy [34, 99, 103]. Drazic i wsp. oceniali ziarniniaki i torbiele zębopochodne okołowierzchołkowe pod kątem liczby mastocytów za pomocą barwienia immunohistochemicznego przeciwciałem CD 117. Według tych badań obecność komórek tucznych zaobserwowano w 71% przewlekłych zmian okołowierzchołkowych, w 29% mastocytów nie stwierdzono [34]. W badaniach autorki, mastocyty stwierdzono w 100% preparatów.

Ci sami autorzy dowiedli obecności mastocytów w 62% ziarniniaków i 88% torbieli. W zgodzie z tymi badaniami pozostaje Rodini i wsp., którzy udowodnili większą liczbę komórek tucznych w torbielach niż ziarniniakach za pomocą barwienia immunohistochemicznego (monoklonalne przeciwciała przeciw-

tryptazie) [103]. Przebadali oni 20 ziarniniaków i 20 torbieli okołowierzchołkowych. Mastocyty stwierdzono w 17,44% ziarniniaków i 22,30% torbieli [103]. Ledesma-Montes i wsp. dowiedli większą liczbę mastocytów w zapaleniu ziarninowym niż w ropniu okołowierzchołkowym (zapalenie ostre) [66]. De Norohna Santos i wsp. badali obecność komórek tucznych w torbielach zapalnych okołowierzchołkowych oraz torbielach zawiązkowych i keratocystach badaniem histochemicznym (błękit toluidyny) oraz immunohistochemicznym (przeciwciało przeciw-tryptazie klon G3). W wynikach opisano, że większa liczba mastocytów znajduje się w torbielach zapalnych niż rozwojowych, przy czym liczba mastocytów w torbielach rozwojowych zwiększa się, gdy ulegną one zakażeniu w porównaniu z niezakażonymi. Dowiedziono również, że w barwieniu immunohistochemicznym stwierdza się średnio 2,7-krotnie więcej mastocytów niż w barwieniu histochemicznym [99]. Odwołując się do badań przeprowadzonych przez Ledesma-Montes i wsp. oraz De Norohna Santos i wsp., można stwierdzić, że mastocyty mają nie tylko większe powinowactwo do tworów torbielowatych o etiologii zapalnej, ale też stwierdza się ich więcej w przebiegu zapalenia przewlekłego niż ostrego.

Yanagisawa i wsp. również stwierdzili obecność komórek tucznych w przewlekłych zmianach o charakterze ziarniniaków okołowierzchołkowych. Komórki tuczne odnotowano we wszystkich 70 badanych preparatach [144]. W porównaniu z innymi komórkami zapalnymi, mastocyty występowały nielicznie, ustępując miejsca limfocytom, komórkom plazmatycznym, makrofagom, oraz leukocytom PMN [144]. Najwięcej komórek tucznych znajdowało się na granicy tkanki ziarninowej i włóknistej kapsuły. De Norohna Santos i wsp. w swoich badaniach z 2012 roku wykazali, że komórki tuczne znajdują się głównie w podnabłonkowej strefie torebki torbieli okołowierzchołkowych, w ich tkance łącznej, w mniejszym zaś stopniu w świetle torbieli [99]. Podobne wyniki otrzymali Thoma i [134] McConel [81] robiąc badania na początku XX wieku. Takie rozmieszczenie komórek może mieć związek z powinowactwem mastocytów do tkanki łącznej. Niektórzy autorzy wszak systematyzują komórki tuczne przy tej tkance [111]. Mathiesen w 1973 wykrył obecność licznych mastocytów zarówno w ziarninach, jak i torbielach okołowierzchołkowych [80]. W swoich badaniach z 2009 roku, Colic i wsp. za pomocą badań immunohistochemicznych (przeciwciało przeciw-tryptazie i CD 117) również potwierdzili obecność komórek tucznych w przewlekłych zmianach okołowierzchołkowych szczęk. Nie badali oni ich dokładnej liczby, lecz ogólne utkanie komórkowe wyżej wymienionych zmian. W wynikach opisano, że mastocyty stanowią zaledwie 4,2 +/- 0,2 % wszystkich komórek [27]. Podobnie jak Yagasinawa w latach 80. XX wieku, odnotowali, że mastocyty stanowią niewielki odsetek komórek zapalnych. Autorzy Ci zaobserwowali również, że komórki te znajdują się głównie na granicy kompartmentu stworzonego z tkanki ziarninowej i włóknistej kapsuły, jak również w przestrzeniach okołonaczyniowych w bliskim kontakcie z limfo-

cytami [27], co z kolei stoi w zgodzie z badaniami Martona [78] i Piatelli [107]. Marton i Kiss w swoich badaniach z 1993 roku, za pomocą reakcji enzymohistochemicznej, udokumentowali obecność mastocytów w skupiskach komórek liczebności od 10 do 70 umiejscowionych we włóknistej kapsule [77].

Z powyższych danych literaturowych, jak i badań własnych, jasno wynika iż mastocyty są obecne w przewlekłych zmianach okołowierzchołkowych szczęk, przy czym w torbielach jest ich więcej niż w zapaleniach ziarninowych. Niektóre z przytoczonych badań dowodzą ponadto, że w większej liczbie występują one w wyżej wymienionych zmianach, niż w zapaleniu ostrym [66] i torbielach rozwojowych [99]. Większa liczba komórek tucznych w torbielach zapalnych może mieć związek z ich częstszym umiejscowieniem w pobliżu skupisk tkanki włóknistej i strefy podnabłonkowej. Struktury te są lepiej wykształcone w torbielach niż w ziarniniakach. Oryginalnie komórki tuczne pochodzą z linii komórek szpiku kostnego, przez niektórych autorów [111] zaliczane są w podziałach histologicznych do komórek tkanki łącznej. Ponad to, jak podaje Metcalfe, mastocyty mają zdolność do wytwarzania tej tkanki [86], która jest oznaką wytwarzania blizny, czyli gojenia stanu zapalnego. Torebkę łącznotkankową torbieli można uznać za przejaw ograniczania zapalenia, który odgradza je grubą łącznotkankową kapsułą od otaczającej kości, by zapobiec rozprzestrzenianiu się zakażenia do innych miejsc organizmu. Występowanie mastocytów w takim obronnym tworze, a być może współtworzenie go, koresponduje z fizjologicznym występowaniem komórek tucznych w miejscach potencjalnych wrót zakażenia.

Jako że większą liczbę komórek tucznych stwierdzono w torbielach zapalnych niż rozwojowych, a w podgrupie rozwojowych – większą liczbę mastocytów stwierdzono w torbielach zakażonych niż w niezakażonych, można przypuszczać, że komórki tuczne są ściśle związane z tkanką łączną powstałą w wyniku reakcji obronnych organizmu a nie z samą budową histologiczną torbieli (wszak torbiele zawiązkowe również posiadają grubą torebkę łącznotkankową).

## **5.2 Rola mastocytów w przewlekłych zapaleniach okołowierzchołkowych szczęk**

W latach 70. i wczesnych 80. XX wieku lansowano tezę, że przewlekłe okołowierzchołkowe stany zapalne są reakcjami nadwrażliwości typu natychmiastowego lub anafilaktycznego, sterowanymi przez histaminę wydzielaną z mastocytów i bazofili w konsekwencji wiązania z przeciwciałem Ig E. Teorie te stały w zupełnej sprzeczności z brakiem klinicznych objawów nadwrażliwości u pacjentów cierpiących na przewlekłe stany zapalne przyzębia okołowierzchołkowego [78]. Bardziej zaawansowana technika histo- i immunohistochemii, pozwoliła określić, że komórek tucznych w tych zmianach jest znacznie mniej niż początkowo sądzono. Niewielka liczba mastocytów wydaje się nie potwierdzać teorii o tak silnej przeciw reakcji nadwrażliwości typu anafilakcji [78].



Piatelli i wsp. uważają, że mastocyty tłumią intensywność odpowiedzi zapalnej w ziarniniakach okołowierzchołkowych poprzez mechanizmy inne niż reakcja nadwrażliwości IgE- zależna [107].

Rozważając potencjalną rolę komórek tucznych w badanych zmianach zapalnych, należy wziąć pod uwagę dowiedziony udział mastocytów w mechanizmach obronnych gospodarza. W badaniach *in vivo*, przeprowadzonych przez Malaviya i wsp. [73] podawano zawiesinę *K. pneumoniae* myszom z genetycznie uwarunkowanym brakiem mastocytów i myszom dzikim. Śmiertelność myszy pozbawionych komórek tucznych była o 80% większa niż dzikich, liczebność bakterii 20-krotnie wyższa, a obecność neutrofilii 5-krotnie niższa. U myszy pozbawionych mastocytów, nie stwierdzono wzrostu stężenia TNF, natomiast stwierdzano 100% śmiertelności w ciągu 5 dni od zakażenia, podczas gdy u myszy dzikich następował wzrost TNF a śmiertelność wynosiła 20%. Rekonstrukcja komórek tucznych zmniejszała śmiertelność, zaś podanie przeciwciał anti-TNF znosiło ten efekt.

Według badań McLachana i wsp. [84], u myszy z genetycznie uwarunkowanym niedoborem mastocytów nie wystąpiło powiększanie okolicznych węzłów chłonnych w czasie indukowanej infekcji bakteryjnej oraz że za powiększanie węzłów chłonnych i napływ limfocytów T odpowiedzialny jest TNF (również wydzielany przez mastocyty). Z badania tego wynika jasno, że niedobór komórek tucznych upośledza odpowiedź immunologiczną gospodarza.

Mastocyty są bardzo ważnym elementem obrony nieswoistej skierowanej przeciwko bakteriom. Umieją je fagocytować, zabijać wewnątrzkomórkowo. Uwalniają szereg mediatorów i cytokin biorących udział w procesach zapalnych, wytwarzają peptydy o działaniu przeciwbakteryjnym. Galli i wsp. wskazują również, że współuczestniczą w mechanizmach obrony swoistej przeciw bakteriom [44]. Według Abrahama i Malaviji można przypuszczać, że najważniejszą funkcją mastocytów jest obrona przeciw patogenom [1]. W związku z przedstawionymi powyżej danymi literaturowymi, wydaje się być jasne, iż w zakresie obrony organizmu przed patogenami, zarówno w ziarniniakach, jak i w torbielach zębopochodnych, funkcja mastocytów jest jednoznaczna.

Należy jednak pamiętać, że mechanizmy obronne, mające na celu zniszczenie patogenu, działają niekiedy również niekorzystnie na sam broniący się organizm, powodując mniejszego lub większego stopnia destrukcję we własnych tkankach. Taki proces ma miejsce w przebiegu przewlekłych zapaleń okołowierzchołkowych.

W zapaleniach ziarninowych nie występuje tak znaczne niszczenie kości jak w torbielach, jednak rozbudowaną, trójwarstwową torebkę torbieli można uznać za próbę ograniczenia zapalenia przez organizm gospodarza, choć sam rozrost torbieli powoduje większe zniszczenie tkanek niż ziarnina. Z drugiej strony tkanka ziarninowa jako taka, również uważana jest za etap gojenia rany. W przypadku zapaleń przywierzchołkowych, tworząca się ziarnina stanowi swego

rodzaju barierę przed wniknięciem drobnoustrojów w głębsze warstwy kości i zabezpiecza przed rozprzestrzenieniem się zapalenia poza obręb wierzchołka zęba. Z danych literaturowych wynika, że mastocyty znajdują się w miejscach będących tak zwanymi wrotami zakażenia (tj. błona śluzowa układu pokarmowego, oddechowego, skóra, w pobliżu naczyń krwionośnych). Nie wydaje się więc być zaskoczeniem obecność tych komórek w okołowierzchołkowych zmianach zapalnych.

Analizując rolę komórek tłuszczowych w przewlekłych zmianach okołowierzchołkowych szczęk należałoby wziąć pod uwagę udział mastocytów w procesie niszczenia i gojenia kości.

### 5.2.1 Mastocyty a niszczenie tkanek okołowierzchołkowych

Jako że wielu autorów stwierdza obecność mastocytów w głębokiej warstwie włóknistej kapsuły torbieli, a więc w miejscu najbliższego kontaktu z otaczającą kością, można przypuszczać, że mastocyty poprzez produkty swej degranulacji – pośrednio i bezpośrednio – indukują resorpcję kości.

Niektóre z mediatorów wydzielanych przez komórki tłuszczowe powodują destrukcję tkanek poprzez rozkład macierzy pozakomórkowej, dzięki czemu zwiększa się liczba innych komórek zapalenia w zaatakowanym przez bakterie obszarze oraz przyspiesza rozprzestrzenianie się uwolnionych z nich mediatorów. Proces ten ma miejsce dzięki obojętnym proteazom i metaloproteinazom [46, 102, 106]. Tryptaza hydrolizuje fibronektynę i rozkłada kolagen typu I a chymaza degradowuje kolagen typu IV, fibronektynę, lamininę i proteoglikany. Metaloproteinazy MMP-2 i MMP-9 rozszczepiają elastynę, fibronektynę i kolagen typu IV, V, VII.

Torbiel powiększając swe rozmiary, niszczy kość. Obecność heparyny wytwarzanej przez mastocyty może przyspieszać rozpad glikozaminoglikanów i proteoglikanów w płynie torbieli, przyczyniając się do wzrostu ciśnienia hydrostatycznego i osmotycznego [120, 121], co pobudza wzrost zmiany. Prostaglandyny oraz tryptaza pochodzące ze zdegranulowanych mastocytów na granicy torbiel/kość, mogą powodować niszczenie tej drugiej [24]. Dodatkowo, w swoim artykule Yanagisawa przytacza badania, z których wynika, że chymaza i N-acetylobetaglukosaminidaza mogą stymulować niszczenie tkanki [144]. W swojej pracy z 1971 roku, Taylor opisuje, że degranulacja mastocytów pobudza kolagenazę do destrukcji tkanki [130].

de Noronha Santos Netto i wsp. odkryli, że najwięcej mastocytów znajduje się w najbardziej zewnętrznej części ściany torbieli, a więc w części graniczącej bezpośrednio z kością, co może mieć związek z utratą kości, jak ma to miejsce w osteoporozie i mastocytozie [25].

Teronen i wsp. również zaobserwowali obecność zdegranulowanych mastocytów na obrzeżach torbieli zębopochodnych, na granicy z otaczającą kością.

Stąd teza, że tryptaza wydzielana z mastocytów może powodować destrukcję kości [131]. Podobne obserwacje poczynili de Oliviera Rodini i wsp. [103].

Ponad to mastocyty regulują utratę tkanek twardych poprzez aktywność osteoklastów wydzielając czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GASCF) [25] oraz PGD2. De Oliviera Rodini i wsp. również przychylają się do tezy, że PGD2 przyczynia się do resorpcji kości promując wzrost torbieli [103]. Mastocyty stymulują również aktywność osteoklastów poprzez wydzielaną heparynę [47] i TNF alfa [30, 34]. Ciekawy wydaje się być fakt, że komórki tuczne są jedynymi komórkami, z których TNF alfa wydzielany jest 10 do 20 minut po aktywacji [37, 73]. Histamina i serotonina może powodować wzrost przepuszczalności naczyniowej [144], co przyczynia się do zmiany ciśnienia osmotycznego i wzrostu torbieli. Jako że mastocyty pobudzają niszczenie kości i wzrost torbieli, spekulowano nad możliwością zmniejszenia liczby tych komórek celem modulowania wzrostu torbieli [131]. Smith i wsp. [119] uważają, że produkowana i wydzielana przez komórki tuczne histamina może przyczyniać się do wzrostu torbieli ze względu na swoje wazoaktywne właściwości, które powodują uwolnienie białek plazmatycznych. Te z kolei w warunkach utrudnionego drenażu limfatycznego, mogą wędrować do płynu wewnątrz światła torbieli powodując jej rozrost poprzez zwiększenie ciśnienia osmotycznego. De Oliviera Rodini i wsp. [103] sugerują, że do resorpcji kości w trakcie wzrostu torbieli, może przyczyniać się również aktywacja lub supresja odpowiedzi immunologicznej.

### 5.2.2 Komórki tuczne a gojenie tkanek okołowierzchołkowych

W przewlekłych zapaleniach tkanek okołowierzchołkowych, fazy destrukcji przeplatane są okresami regeneracji, jak również procesy te mogą ze sobą współistnieć. Komórki tuczne występujące w przewlekłych zmianach okołowierzchołkowych również przyczyniają się do obrony gospodarza oraz regeneracji tkanek przyzębia. Tryptaza oraz TNF-alfa wydzielane z mastocytów mogą stymulować fibroblasty do tworzenia kolagenu [49, 64], a przez to promować włóknienie i gojenie rany [18]. Ponadto komórki tuczne mogą przylegać do fibronektyny, podobnie jak fibroblasty [31, 143] za pomocą klasycznego receptora integryny fibronektyny. Mastocyty przyczyniają się do procesów włóknienia [86] poprzez produkcję kwasu hialuronowego [7] oraz intensyfikują wzrost włókien kolagenowych dzięki efektom działania heparyny [89]. Dzięki tym mechanizmom, mastocyty mogą przyczyniać się do reperacji tkanki i syntezy kolagenu [62, 76, 144] oraz włóknienia [31]. Mastocyty w szczególny sposób wpływają na organizację ziarniny w trakcie gojenia rany [68, 122]. Drazić i wsp. w swoim badaniu stwierdzili obecność zdegranulowanych komórek tucznych w dużej bliskości fibroblastów, co skłoniło ich do wysunięcia tezy o możliwej roli komórek tucznych w formowaniu tkanki włóknistej w przewlekłych zmianach okołowierzchołkowych [34]. Niszczenie tkanek przez metaloproteiny nie tyl-

ko powoduje samą destrukcję tkanki, ale też przyczynia się do napływania innych komórek zapalenia w miejsce infekcji oraz ułatwia rozprzestrzenianie się mediatorów mastocyta. W argumentach „kontra zapaleniu” nie należy zapominać o najważniejszej funkcji – czyli fagocytozie bakterii i ich wewnątrzkomórkowemu niszczeniu.

Należy wyraźnie zaznaczyć, że szereg działań zapoczątkowanych przez mediatory mastocyta ma na celu ograniczenie zapalenia, tym samym przyczyniając się do zniszczenia okolicznych tkanek jako skutek uboczny działania zasadniczego. I tak też tryptaza promująca napływ komórek obronnych do miejsca infekcji, spowoduje jednocześnie degradację macierzy pozakomórkowej, natomiast heparyna odpowiedzialna za wzrost ciśnienia osmotycznego jako działanie przeciwzapalne, tym samym ubocznie zastymuluje rozrost torbieli i niszczenie kości. Histamina w swym działaniu przeciwzapalnym podniesie ciśnienie osmotyczne i przepuszczalność naczyń, co będzie miało te same skutki, co działanie heparyny (tabela 22).

Należy również pamiętać, że mediatory mastocytów w swym działaniu obronnym, pełnią ważną funkcję chemoatraktantów innych komórek niezbędnych w procesie zwalczania zapalenia (tabela 23).

**Tabela 22. Funkcje mediatorów mastocyta w niszczeniu/naprawie kości**

*Tabele 22. Functions of mast cells mediators in bone destruction/ reparation*

| <b>Substancja</b><br><i>Substance</i>                  | <b>Funkcja w niszczeniu kości</b><br><i>Role in bone destruction</i>  | <b>Funkcja w naprawie kości</b><br><i>Role in bone reconstruction</i> |
|--|---|---|
| MMP (głównie tryptaza)<br><i>MMP (mainly tryptase)</i> | Degradacja kolagenu i innych składowych macierzy pozakomórkowej<br><i>Degradation of collagen and other substances of extracellular matrix</i>  | Tworzenie kolagenu<br><i>Collagen formation</i>                       |
| Heparyna<br><i>Heparin</i>                             | Wzrost ciśnienia osmotycznego<br><i>Raise of osmotic pressure</i><br>Aktywacja osteoklastów<br><i>Activation of osteoclasts</i>                 |   |
| PG<br><i>PG</i>  | Aktywacja osteoklastów<br><i>Activation of osteoclasts</i>  |   |
| TNF alfa<br><i>TNF alfa</i>                            | Aktywacja osteoklastów<br><i>Activation of osteoclasts</i>  | Tworzenie kolagenu<br><i>Collagen formation</i>                       |
| Histamina<br><i>Histamine</i>                          | Wzrost przepuszczalności naczyniowej<br><i>Raise of vessel permability</i><br>Wzrost ciśnienia osmotycznego<br><i>Raise of osmotic pressure</i> | Angiogeneza<br><i>Angiogenesis</i>                                    |

Tabela 23. Wybrane funkcje mediatorów mastocyta w procesie zapalnym

Table 23. Selected functions of mast cell mediators in inflammatory process

| Substancja<br><i>Substance</i>                         | Funkcja w procesie zapalnym<br><i>Role in inflammatory process</i>   |
|--|--|
| MMP (głównie tryptaza)<br><i>MMP (mainly tryptase)</i> | Napływ komórek zapalenia w miejsce infekcji<br><i>Attraction of inflammatory cells into inflammation area</i>  |
| Heparyna<br><i>Heparine</i>                            | Chemoatraktant neutrofilów, eozynofilów<br><i>Chemoattractant of neutrophils and eosinophils</i>   |
| PG<br><i>PG</i>  | Chemoatraktant neutrofilów<br><i>Chemoattractant of neutrophils</i>  |
| TNF alfa<br><i>TNF alfa</i>                            | Chemoatraktant neutrofilów<br><i>Chemoattractant of neutrophils</i>  |
| Histamina<br><i>Histamine</i>                          | Ułatwienie diapedezy, chemoatraktant eozynofilów, limfocytów Th<br><i>Facilitation of diapedesis, chemoattractant of eosinophiles and Th lymphocytes</i> |

### 5.2.3 Mastocyty a inne komórki obecne w przewlekłych zmianach okołowierzchołkowych

Należy pamiętać, że w przewlekłych stanach zapalnych przyzębia okołowierzchołkowego stwierdza się obecność różnych komórek. Fakt ten podkreśla w szczególności Marton, który przeprowadził kilka badań na temat komórek nacieku zapalnego [77, 78]. Komórki te biorą udział w zwalczaniu patogenu, jak i w destrukcji tkanek okołowierzchołkowych. Niektóre pełnią bardzo istotną rolę w patogenezie chorób zapalnych przyzębia okołowierzchołkowego, inne natomiast nie są aż tak istotne.

Opierając się na badaniach innych autorów odnośnie komórek obecnych w zmianach okołowierzchołkowych [27, 77, 78], można do nich zaliczyć leukocyty PMN, limfocyty B i T, komórki plazmatyczne, makrofagi, immunoglobuliny oraz komórki NK.

Marton i Kiss w publikacji z 2000 roku podkreślają rolę leukocytów PMN. Zaliczają się do nich neutrofile, zwane także mikrofagami, które zapewniają pierwszą linię obrony przed wysiewem bakterii z zainfekowanego kanału zębowego dzięki możliwościom fagocytozy oraz zabijania drobnoustrojów. Neutrofile najliczniejsze są w strefie wydzielniczej zmiany okołowierzchołkowej a ich zadaniem jest niszczenie bakterii, eliminowanie pozostałości błon bakteryjnych, antygenów, toksyn i enzymów. Dzięki wydzielanej IL-1 i IL-6, neutrofile te mogą aktywnie uczestniczyć w dodatnim sprzężeniu autostymulacji (np. wywołaniu wybuchu tlenowego) poprzez ekspresję genów. Mogą również brać udział w rekrutowaniu i dojrzewaniu osteoklastów [11, 40]. Eozynofile stanowią niewielką część populacji nacieku limfocytów PMN.

Ci sami autorzy podkreślają obecność limfocytów B i T. Zarówno limfocyty B, jak komórki plazmatyczne produkujące przeciwciała IgG, IgA, IgM zostały zidentyfikowane w dużych ilościach w omawianych zmianach, jednak limfocyty T występują tam znacznie liczniej [15]. Dzielą się na limfocyty CD4+ i CD8+.

CD4 + mogą pomagać w produkcji immunoglobulin jak również reakcjach cytotocznych limfocytów T [29]. Limfocyty CD8+ stają się cytotoksyczne po stymulacji antygenowej jak również nabywają funkcji supresorowych. Wyższy stosunek CD4/CD8 odnotowano w torbielach niż w ziarniniakach, przy czym limfocytów B również było więcej [123]. Wg badań Kawashimy i wsp. więcej limfocytów CD4 znajduje się w młodszych zmianach, podczas gdy w dojrzałych przeważają limfocyty CD8 [57]. Znaczyłoby to, że w młodszych zmianach przeważają limfocyty pomocnicze Th, natomiast w dojrzałych zmianach – supresorowe i cytotoksyczne Ts i Tc.

Komórki NK (*natural killers*) – to komórki będące połączeniem swoistej i nieswoistej odpowiedzi zapalnej. Badania Bancrofta i wsp. wykazały, że NK nie produkują odpowiednich cytokin. U zmutowanych myszy z poważnymi niedoborami immunologicznymi w zakażonym kanale korzeniowym nie są wydzielane odpowiednie substancje produkowane przez komórki układu odpornościowego, a cytokiny wytwarzane przez NK są niewystarczające do stworzenia ziarniniaka okołowierzchołkowego, w związku z tym zwierzę ulega uogólnionej infekcji [9, 10]. Stąd też rola tych komórek w przeciwdziałaniu zapaleniu przyzębia okołowierzchołkowego nie wydaje się być istotna.

Obecność makrofagów podkreślana jest przez wielu autorów. Ich obecność jest istotna w przewlekłych zmianach okołowierzchołkowych, choć ich liczba waha się od 4% do 50%. Kawashima i wsp. wykazali, że po otwarciu zęba myszy i ekspozycji miazgi na zanieczyszczone środowisko jamy ustnej, jedną z pierwszych reakcji było pojawienie się dużej liczby makrofagów w tkankach okołowierzchołkowych [57]. Należy też pamiętać, że makrofagi wydzielają szereg metaloproteinaz, które mogą niszczyć tkanki przyzębia.

Mastocyty biorą udział w patogenezie zapalenia przewlekłego, stymulując organizm gospodarza do obrony przeciwbakteryjnej. Komórki tuczne mogą modulować proliferację limfocytów CD8+. De Oliviera Rodni w swojej pracy z 2004 roku, na podstawie badań własnych oraz innych autorów, stwierdza, że poprzez wydzielanie cytokin typu Th1 [105] oraz Th2 [86, 136] wpływają one na różnicowanie limfocytów T. Villa i wsp. oraz Fox i wsp. [43, 141] dowiedli w badaniach, że mastocyty prezentują antygen limfocytom T. De Oliviera Rodini na podstawie swoich badań sugeruje, że obecność mastocytów w przewlekłych zmianach okołowierzchołkowych może być związana z regulacją komórkowych mechanizmów immunologicznych związanych z limfocytami CD8+ [103].

Inni autorzy również widzą związek pomiędzy mastocytami a komórkami immunokompetentnymi. Piatelli i wsp. uważają, że produkty limfocytów T intensyfikują wzrost mastocytów *in vitro* [108]. Z drugiej strony, ci sami autorzy są również zdania, że histamina wydzielana z komórek tucznych może hamować odpowiedź zapalną, działając supresorowo na produkcję INF i IL pochodzących z limfocytów T.

Mastocyty działają obronnie na tkanki gospodarza w obrębie przyzębia okołowierzchołkowego na zasadzie tych samych mechanizmów, które zostały przedstawione we wstępie pracy.

W świetle literatury i własnych badań, można przypuszczać, że komórki tuczne przez swoją obecność w przewlekłych zapalnych zmianach okołowierzchołkowych szczęk, są zaangażowane w regulację mechanizmów immunologicznych – balansując pomiędzy procesami niszczenia i gojenia zmienionych zapalnie tkanek. Wiele z substancji uwalnianych z komórek tucznych, jak i procesów, w których biorą one udział, promuje rozrost zmiany okołowierzchołkowej i niszczenie otaczającej kości. Z kolei obecność tych komórek w torbielach okołowierzchołkowych może również przemawiać za naprawczo-obronną funkcją mastocytów, na co argumenty przedstawiono we wcześniejszej części pracy. Trudno jest jednoznacznie określić, czy obecność i aktywacja komórek tucznych w przewlekłych zmianach okołowierzchołkowych szczęk niesie za sobą więcej korzyści czy strat. Z jednej strony obrona przed drobnoustrojami zapewniona przez komórkę tuczną jest ogromnie ważna, lecz z drugiej strony zniszczenie kości jest znaczne. Należy również podkreślić, iż oprócz mastocytów, znacznie więcej komórek oraz mechanizmów mogących powodować destrukcję kości, bierze udział w przewlekłych zapaleniach okołowierzchołkowych, tak więc zniszczenie tkanek jest wypadkową działań zapoczątkowanych przez komórki tuczne i innych komórek zapalenia. Powstaje też pytanie, czy inne komórki nacieku zapalnego nie wystarczyłyby do zwalczenia i ograniczenia infekcji?

Obecnie standardem leczenia przewlekłych zapaleń okołowierzchołkowych zębów jest leczenie zachowawcze – endodontyczne, skojarzone – endodontyczno-chirurgiczne czyli resekcje lub chirurgiczne, czyli usunięcie zęba przyczynowego wraz z wyłuszczeniem otaczającej go zmiany. Na uwagę zasługuje spostrzeżenie De Oliviera Rodini i wsp., którzy zastanawiają się, czy aplikacja środków blokujących miejscowo działanie mastocytów, mogłaby przyczynić się do nowej strategii leczenia przewlekłych zmian okołowierzchołkowych szczęk. Jeśli rzeczywiście rola komórki tucznej okazałaby się tak znacząco negatywną w przebiegu ziarniniaków i torbieli, wówczas aplikacja takich środków mogłaby być ciekawym rozwiązaniem, umożliwiającym pacjentowi nieinwazyjne leczenie. Z drugiej strony, jeśli mastocyt pełni znaczącą rolę w zahamowaniu procesu zapalnego w zapalnych zmianach okołowierzchołkowych, wówczas zablokowanie jego działania mogłoby zadziałać na niekorzyść leczenia, przedłużyć je oraz pogorszyć rokowanie.

Mastocyt bierze udział praktycznie w każdorazowym zetknięciu organizmu z patogenem, działając obronnie z założenia, co jednak w pewnych przypadkach odnosi efekt odwrotny – przykładem może być reakcja anafilaktyczna. Komórka tuczna z racji swojej wielozadaniowości i kaskad mechanizmów, które potrafi uruchomić nie tylko w obrębie szczęk, ale i ogólnoustrojowo, wydaje się być ciekawym tematem do dalszych badań zarówno poznawczych, jak i mających

wartość aplikacyjną, jak na przykład w wyżej wspomnianych metodach leczenia przewlekłych zapaleń okołowierchołkowych.



## 6. WNIOSKI

1. Obecność komórek tucznych stwierdza się w 100 % przewlekłych zmian zapalnych okołowierzchołkowych, zarówno w ziarninach, jak i torbielach.
2. Liczba komórek tucznych jest średnio 3 razy większa w torbielach niż w ziarninach.
3. Barwienie immunohistochemiczne przeciwciałem CD 117 jest dokładniejsze niż histochemiczne metodą Giemsy – uwidacznia średnio 2 razy więcej mastocytów w badanym obszarze.
4. Większa liczba komórek tucznych w torbielach zębopochodnych niż w ziarniniakach może świadczyć o próbie ograniczenia bardziej zaawansowanego w czasie procesu zapalnego przez gospodarza, jako że główną funkcją tych komórek jest obrona organizmu.
5. Potencjalna rola komórek tucznych w powstawaniu przewlekłych zmian okołowierzchołkowych może być dwojaka: zarówno stymulują tkankę kostną do odbudowy, jak i promują jej destrukcję.

## 7. PIŚMIENNICTWO

1. Abraham S.N., Malaviya R.: Mast cells in infection and immunity. *Infect. Immun.* 1997. 65, 9, 3501–8.
2. Adusu T.E., Conlon P.D., Shewen P.E., Black W.D.: *Pasteurella haemolytica* leukotoxin induces histamine release from bovine pulmonary mast cells. *Can. J. Vet. Res.* 1994. 58, 1, 1–5.
3. Agis H., Füreder W., Bankl H.C., Kundi M., Sperr W.R., Willheim M., Boltz-Nitulescu G., Butterfield J.H., Kishi K., Lechner K., Valent P.: Comparative immunophenotypic analysis of human mast cells, blood basophils and monocytes. *Immunology* 1996. 87, 4, 535–43.
4. Anderson D.M., Maraskovsky E., Billingsley W.L., Dougall W.C., Tometsko M.E., Roux E.R., Teepe M.C., DuBose R.F., Cosman D., Galibert L.: A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 1997. 390, 6656, 175–9.
5. Arber D.A., Tamayo R., Weiss L.M.: Paraffin section detection of the c-kit gene product (CD117) in human tissues: value in the diagnosis of mast cell disorders. *Hum. Pathol.* 1998. 29, 5, 498–504.
6. Arden L.: Revised nomenclature for antigen non-specific T-cell proliferation and helper factors. *J Immunol.* 1979. 123, 6, 2928–2929.
7. Asboe-Hansen G.: The origin in synovial mucin; Ehrlich's mast cell, a secretory element of the connective tissue. *Ann. Rheum.Dis.* 1950. 9, 2, 149–58.
8. Atkins F.M., Friedman M.M., Subba Rao P.V., Metcalfe D.D.: Interactions between Mast Cells, Fibroblasts and Connective Tissue Components. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1985. 77, 1-2, 96–102.
9. Bancroft G.J., Schreiber R.D., Bosma G.C., Bosma M.J., Unanue E.R.: A T cell-independent mechanism of macrophage activation by interferon-gamma. *J. Immunol.* 1987. 139, 4, 1104–7.
10. Bancroft G.J., Sheehan K.C., Schreiber R.D., Unanue E.R.: Tumor necrosis factor is involved in the T cell-independent pathway of macrophage activation in scid mice. *J. Immunol.* 1989. 143, 1, 127–30.
11. Bando Y., Henderson B., Meghji S., Poole S., Harris M.: Immunocytochemical localization of inflammatory cytokines and vascular adhesion receptors in radicular cysts. *J. Oral. Pathol. Med.* 1993. 22, 5, 221–227.

12. Barańska- Gachowska M.: Diagnostyka kliniczna chorób miazgi i okołowierzchołkowych tkanek zęba. W: Barańska-Gachowska M. (red.): Endoncja wieku rozwojowego i dojrzałego, Lublin, Czelej, 2004, 111–124.
13. Barańska- Gachowska M.: Histofizjologia endondodoncjum i tkanek okołowierzchołkowych zęba. W: Barańska-Gachowska M. (red.): Endoncja wieku rozwojowego i dojrzałego, Lublin, Czelej, 2004, 14-23.
14. Benhamou M., Bonnerot C., Fridman W.H., Daëron M.: Molecular heterogeneity of murine mast cell Fc gamma receptors. *J. Immunol.* 1990. 144, 8, 3071–7.
15. Bergenholtz G., Lekholm U., Liljenberg B., Lindhe J.: Morphometric analysis of chronic inflammatory periapical lesions in root-filled teeth. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol.* 1983. 55, 3, 295–301.
16. Birkedal-Hansen H.: Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J. Periodontol.* 1993. 64, 5 Suppl, 474–84.
17. Bischoff S.C., Wedemeyer J., Herrmann A., Meier P.N., Trautwein C., Cetin Y., Maschek H., Stolte M., Gebel M., Manns M.P.: Quantitative assessment of intestinal eosinophils and mast cells in inflammatory bowel disease. *Histopathology* 1996. 28, 1, 1–13.
18. Bischoff S.C.: Role of mast cells in allergic and non-allergic immune responses: comparison of human and murine data. *Nat. Rev. Immunol.* 2007. 7, 2, 93–104.
19. 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.* 1976. 42, 5, 656–78.
20. Boyce B.F., Xing L.: Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res. Ther.* 2007. 9 Suppl 1, S1.
21. Bradding P., Holgate S.T.: Immunopathology and human mast cell cytokines. *Crit. Rev. Onco. Hematol.* 1999. 31, 2, 119–33.
22. Brzezińska-Błaszczyk E., Rdzany R.S.: Rola komórek tucznych w nieswoistej obronie przeciwbakteryjnej. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2005. 502, 544–553.
23. Całkosiński I., Dobrzyński M., Całkosińska M., Seweryn E., Bronowicka-Szydełko, Agnieszka Dzierzba K., Ceremuga I., Gamian A.: Charakterystyka odczynu zapalnego. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2009. 63, 395–408.

24. Chatterjee S., Mahajan S., Boaz K., George T.: Quantitative role of mast cells in odontogenic cystic enlargement. *Braz. J. Oral. Sci.* 2008. 7, 27, 1662–1665.
25. Chiappetta N., Gruber B.: The role of mast cells in osteoporosis. *Semin. Arthritis Rheum.* 2006. 36, 1, 32–6.
26. Church M.K., Norn S., Pao G.J., Holgate S.T.: Non-IgE-dependent bacteria-induced histamine release from human lung and tonsillar mast cells. *Clin. Allergy* 1987. 17, 4, 341–53.
27. Colić M., Gazivoda D., Vučević D., Vasiljić S., Rudolf R., Lukić A.: Proinflammatory and immunoregulatory mechanisms in periapical lesions. *Mol. Immunol.* 2009. 47, 1, 101–13.
28. Columbo M., Bochner B.S., Marone G.: Human skin mast cells express functional beta 1 integrins that mediate adhesion to extracellular matrix proteins. *J. Immunol.* 1995. 154, 11, 6058–64.
29. Croft M., Swain S.L.: B cell response to T helper cell subsets. II. Both the stage of T cell differentiation and the cytokines secreted determine the extent and nature of helper activity. *J. Immunol.* 1991. 147, 11, 3679–89.
30. Danin J., Linder L.E., Lundqvist G., Andersson L.: Tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta1 in chronic periapical lesions. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol Endod.* 2000. 90, 4, 514–7.
31. Dastyk J., Costa J.J., Thompson H.L., Metcalfe D.D.: Mast cell adhesion to fibronectin. *Immunology* 1991. 73, 4, 478–84.
32. DeSchryver-Keckskemeti K., Williamson J.R., Jakschik B.A., Clouse R.E., Alpers D.H.: Mast cell granules within endothelial cells: a possible signal in the inflammatory process? *Mod. Pathol.* 1992. 5, 3, 343–7.
33. Doyle S.E., O'Connell R.M., Miranda G.A., Vaidya S.A., Chow E.K., Liu P.T., Suzuki S., Suzuki N., Modlin R.L., Yeh W.-C., Lane T.F., Cheng G.: Toll-like receptors induce a phagocytic gene program through p38. *J. Exp. Med.* 2004. 199, 1, 81–90.
34. Dražić R., Sopta J., Minić A.J.: Mast cells in periapical lesions: potential role in their pathogenesis. *J. Oral. Pathol Med.* 2010. 39, 3, 257–62.
35. Dreskin S.C., Abraham S.N.: Production of TNF-alpha by murine bone marrow derived mast cells activated by the bacterial fimbrial protein, FimH. *Clin. Immunol.* 1999. 90, 3, 420–4.

36. Van Dyke T.E., Vaikuntam J.: Neutrophil function and dysfunction in periodontal disease. *Curr. Opin. Periodontol.* 1994. 19–27.
37. Echtenacher B., Männel D.N., Hültner L.: Critical protective role of mast cells in a model of acute septic peritonitis. *Nature* 1996. 381, 6577, 75–7.
38. Ehrlich P.: Beitrage zur kenntniss der quilinfarbung und ihrer verivendung in den mikroskopischen technik. *Alch. Mikros. Anat.* 1877. 13, 263–267.
39. el-Lati S.G., Dahinden C.A., Church M.K.: Complement peptides C3a- and C5a-induced mediator release from dissociated human skin mast cells. *J. Invest. Dermatol.* 1994. 102, 5, 803–6.
40. Euler G.J., Miller G.A., Hutter J.W., D'Alesandro M.M.: Interleukin-6 in neutrophils from peripheral blood and inflammatory periradicular tissues. *J. Endod.* 1998. 24, 7, 480–4.
41. Fajardo L.F., Kwan H.H., Kowalski J., Prionas S.D., Allison A.C.: Dual role of tumor necrosis factor-alpha in angiogenesis. *Am. J. Pathol.* 1992. 140, 3, 539–44.
42. Formigli L., Orlandini S.Z., Tonelli P., Giannelli M., Martini M., Brandi M.L., Bergamini M., Orlandini G.E.: Osteolytic processes in human radicular cysts: morphological and biochemical results. *J. Oral. Pathol. Med.* 1995. 24, 5, 216–20.
43. Fox C.C., Jewell S.D., Whitacre C.C.: Rat peritoneal mast cells present antigen to a PPD-specific T cell line. *Cell. Immunol.* 1994. 158, 1, 253–64.
44. Galli S.J., Nakae S., Tsai M.: Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat. Immunol.* 2005. 6, 2, 135–42.
45. Gao Z., Flaitz C.M., Mackenzie I.C.: Expression of keratinocyte growth factor in periapical lesions. *J. Dent. Res.* 1996. 75, 9, 1658–63.
46. Goetzl E.J., Banda M.J., Leppert D.: Matrix metalloproteinases in immunity. *J. Immunol.* 1996. 156, 1, 1–4.
47. Goldhaber P.: Heparin enhancement of factors stimulating bone resorption in tissue culture. *Science.* 1965. 147, 3656, 407–8.
48. Gordon J.R., Galli S.J.: Release of both preformed and newly synthesized tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha)/cachectin by mouse mast cells stimulated via the Fc epsilon RI. A mechanism for the

- sustained action of mast cell-derived TNF-alpha during IgE-dependent biological res. *J. Exp. Med.* 1991. 174, 1, 103–7.
49. Gruber B.L., Kew R.R., Jelaska A., Marchese M.J., Garlick J., Ren S., Schwartz L.B., Korn J.H.: Human mast cells activate fibroblasts: tryptase is a fibrogenic factor stimulating collagen messenger ribonucleic acid synthesis and fibroblast chemotaxis. *J. Immunol.* 1997. 158, 5, 2310–7.
  50. Hock K.L., Cassell G.H., Duffy L.B., Atkinson T.P.: Mycoplasma pneumoniae induced activation and cytokine production in rodent mast cells. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002. 109, 470–476.
  51. Irani A.M., Bradford T.R., Kepley C.L., Schechter N.M., Schwartz L.B.: Detection of MCT and MCTC types of human mast cells by immunohistochemistry using new monoclonal anti-tryptase and anti-chymase antibodies. *J. Histochem. Cytochem.* 1989. 37, 10, 1509–15.
  52. James W.W.: Do Epithelial Odontomes Increase in Size by their own Tension? *Proc. R. Soc. Med.* 1926. 19, Odontol Sect, 73–7.
  53. Janssens S., Beyaert R.: Role of Toll-like receptors in pathogen recognition. *Clin. Microbiol. Rev.* 2003. 16, 4, 637–46.
  54. Jańczuk Z.: Morfologia przyzębia. W: Jańczuk Z. (red.), *Praktyczna Periodontologia Kliniczna.*, Warszawa, Kwintesencja, 2004, 13–16.
  55. Jensen C., Norn S., Stahl Skov P., Espersen F., Koch C., Permin H.: Bacterial histamine release by immunological and non-immunological lectin-mediated reactions. *Allergy* 1984. 39, 5, 371–7.
  56. Johnson A.R., Hugli T.E., Müller-Eberhard H.J.: Release of histamine from rat mast cells by the complement peptides C3a and C5a. *Immunology* 1975. 28, 6, 1067–80.
  57. Kawashima N., Okiji T., Kosaka T., Suda H.: Kinetics of macrophages and lymphoid cells during the development of experimentally induced periapical lesions in rat molars: a quantitative immunohistochemical study. *J. Endod.* 1996. 22, 6, 311–6.
  58. Kenny P.A., McDonald P.J., Finlay-Jones J.J.: The effect of cytokines on bactericidal activity of murine neutrophils. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 1993. 7, 3, 271–9.
  59. Kilian M.: Degradation of immunoglobulins A2, A2, and G by suspected principal periodontal pathogens. *Infect. Immun.* 1981. 34, 3, 757–65.

- 
60. Kitamura Y., Go S., Hatanaka K.: Decrease of mast cells in W/W<sup>v</sup> mice and their increase by bone marrow transplantation. *Blood* 1978. 52, 2, 447–52.
  61. Kitamura Y., Yokoyama M., Matsuda H., Ohno T., Mori K.J.: Spleen colony-forming cell as common precursor for tissue mast cells and granulocytes. *Nature* 1981. 291, 5811, 159–60.
  62. Kontiainen S., Ranta H., Lautenschlager I.: Cells infiltrating human periapical inflammatory lesions. *J. Oral. Pathol.* 1986. 15, 10, 544–6.
  63. Kopp E., Medzhitov R.: Recognition of microbial infection by Toll-like receptors. *Curr. Opin. Immunol.* 2003. 15, 4, 396–401.
  64. Kovacs E.J., DiPietro L.A.: Fibrogenic cytokines and connective tissue production. *FASEB. J.* 1994. 8, 11, 854–61.
  65. Kubes P., Granger D.N.: Leukocyte-endothelial cell interactions evoked by mast cells. *Cardiovasc. Res.* 1996. 32, 4, 699–708.
  66. Ledesma-Montes C., Garcés-Ortiz M., Rosales-García G., Hernández-Guerrero J.C.: Importance of mast cells in human periapical inflammatory lesions. *J. Endod.* 2004. 30, 12, 855–9.
  67. Lehrer R.I., Ganz T.: Defensins of vertebrate animals. *Curr Opin Immunol.* 2002. 14, 1, 96–102.
  68. Liebman S.M., Langer J.C., Marshall J.S., Collins S.M.: Role of mast cells in peritoneal adhesion formation. *Am. J. Surg.* 1993. 165, 1, 127–30.
  69. Lin L.M., Wang S.L., Wu-Wang C., Chang K.M., Leung C.: Detection of epidermal growth factor receptor in inflammatory periapical lesions. *Int. Endod. J.* 1996. 29, 3, 179–84.
  70. Lin T.-J., Garduno R., Boudreau R.T.M., Issekutz A.C.: *Pseudomonas aeruginosa* activates human mast cells to induce neutrophil transendothelial migration via mast cell-derived IL-1 alpha and beta. *J Immunol.* 2002. 169, 8, 4522–30.
  71. Malaviya R., Abraham S.N.: Role of mast cell leukotrienes in neutrophil recruitment and bacterial clearance in infectious peritonitis. *J. Leukoc. Biol.* 2000. 67, 6, 841–6.
  72. Malaviya R., Gao Z., Thankavel K., van der Merwe P.A., Abraham S.N.: The mast cell tumor necrosis factor alpha response to FimH-expressing *Escherichia coli* is mediated by the

- glycosylphosphatidylinositol-anchored molecule CD48. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1999. 96, 14, 8110–5.
73. Malaviya R., Ikeda T., Ross E., Abraham S.N.: Mast cell modulation of neutrophil influx and bacterial clearance at sites of infection through TNF-alpha. *Nature* 1996. 381, 6577, 77–80.
74. Malaviya R., Ross E., Jakschik B.A., Abraham S.N.: Mast cell degranulation induced by type 1 fimbriated *Escherichia coli* in mice. *J. Clin. Invest.* 1994. 93, 4, 1645–53.
75. Malaviya R., Ross E.A., MacGregor J.I., Ikeda T., Little J.R., Jakschik B.A., Abraham S.N.: Mast cell phagocytosis of FimH-expressing enterobacteria. *J. Immunol.* 1994. 152, 4, 1907–14.
76. Márton I., Nemes Z., Harmati S.: Quantitative significance of IgE-producing plasma cells and tissue distribution of mast cells in apical periodontitis. *Oral. Microbiol. Immunol.* 1990. 5, 1, 46–8.
77. Marton I.J., Kiss C.: Characterization of inflammatory cell infiltrate in dental periapical lesions. *Int. Endod. J.* 1993. 26, 2, 131–6.
78. Márton I.J., Kiss C.: Protective and destructive immune reactions in apical periodontitis. *Oral. Microbiol. Immunol.* 2000. 15, 3, 139–50.
79. Masuda A., Yoshikai Y., Aiba K., Matsuguchi T.: Th2 cytokine production from mast cells is directly induced by lipopolysaccharide and distinctly regulated by c-Jun N-terminal kinase and p38 pathways. *J. Immunol.* 2002. 169, 7, 3801–10.
80. Mathiesen A.: Preservation and demonstration of mast cells in human apical granulomas and radicular cysts. *Scand. J. Dent. Res.* 1973. 81, 3, 218–29.
81. McConnel G.: The histopathology of dental granulomas. *Jouran Am. Dent. Assoc.* 1921. 8, 390–398.
82. McCurdy J.D., Lin T.J., Marshall J.S.: Toll-like receptor 4-mediated activation of murine mast cells. *J. Leukoc. Biol.* 2001. 70, 6, 977–84.
83. McCurdy J.D., Olynych T.J., Maher L.H., Marshall J.S.: Cutting edge: distinct Toll-like receptor 2 activators selectively induce different classes of mediator production from human mast cells. *J. Immunol.* 2003. 170, 4, 1625–9.
84. McLachlan J.B., Hart J.P., Pizzo S. V., Shelburne C.P., Staats H.F., Gunn M.D., Abraham S.N.: Mast cell-derived tumor necrosis factor



- induces hypertrophy of draining lymph nodes during infection. *Nat. Immunol.* 2003. 4, 12, 1199–205.
85. McNicholas S., Torabinejad M., Blankenship J., Bakland L.: The concentration of prostaglandin E2 in human periradicular lesions. *J. Endod.* 1991. 17, 3, 97–100.
86. Metcalfe D.D., Baram D., Mekori Y.A.: Mast cells. *Physiol. Rev.* 1997. 77, 4, 1033–79.
87. Montemurro P., Nishioka H., Dundon W.G., de Bernard M., Del Giudice G., Rappuoli R., Montecucco C.: The neutrophil-activating protein (HP-NAP) of *Helicobacter pylori* is a potent stimulant of mast cells. *Eur. J. Immunol.* 2002. 32, 3, 671–6.
88. Moon T.C., Murakami M., Ashraf M.D., Kudo I., Chang H.W.: Regulation of cyclooxygenase-2 and endogenous cytokine expression by bacterial lipopolysaccharide that acts in synergy with c-kit ligand and Fc epsilon receptor I crosslinking in cultured mast cells. *Cell. Immunol.* 1998. 185, 2, 146–52.
89. Morrione T.G.: The formation of collagen fibers by the action of heparin on soluble collagen: an electron microscope study. *J. Exp. Med.* 1952. 96, 2, 107–14.
90. Muñoz S., Hernández-Pando R., Abraham S.N., Enciso J.A.: Mast cell activation by *Mycobacterium tuberculosis*: mediator release and role of CD48. *J. Immunol.* 2003. 170, 11, 5590–6.
91. Nair P.N., Schroeder H.E.: Epithelial attachment at diseased human tooth-apex. *J. Periodontal Res.* 1985. 20, 3, 293–300.
92. Nair P.N.R.: Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit. Rev. Oral. Biol. Med.* 2004. 15, 6, 348–81.
93. Di Nardo A., Vitiello A., Gallo R.L.: Cutting edge: mast cell antimicrobial activity is mediated by expression of cathelicidin antimicrobial peptide. *J. Immunol.* 2003. 170, 5, 2274–8.
94. Neville B., Damm D., Allen C., Bouquot J.: Pulpal and Periapical Disease. W: Neville B., Damm D., Allen C., Bouquot J.: *Oral and Maxillofacial Pathology*. Saunders Elsevier, 2009, s. 113–116.
95. Nilsson G., Johnell M., Hammer C.H., Tiffany H.L., Nilsson K., Metcalfe D.D., Siegbahn A., Murphy P.M.: C3a and C5a are chemotaxins for human mast cells and act through distinct receptors via a pertussis toxin-sensitive signal transduction pathway. *J. Immunol.* 1996. 157, 4, 1693–8.

96. Niyonsaba F., Iwabuchi K., Matsuda H., Ogawa H., Nagaoka I.: Epithelial cell-derived human beta-defensin-2 acts as a chemotaxin for mast cells through a pertussis toxin-sensitive and phospholipase C-dependent pathway. *Int. Immunol.* 2002. 14, 4, 421–6.
97. Niyonsaba F., Someya A., Hirata M., Ogawa H., Nagaoka I.: Evaluation of the effects of peptide antibiotics human beta-defensins-1/-2 and LL-37 on histamine release and prostaglandin D(2) production from mast cells. *Eur. J. Immunol.* 2001. 31, 4, 1066–75.
98. Norn S., Stahl Skov P., Jensen C., Bøg-Hansen T.C., Lihme A., Espersen F., Permin H.: Lectin-mediated reactions in histamine release caused by bacteria. *Agents Actions* 1984. 14, 3-4, 481–3.
99. De Noronha Santos Netto J., Pires F.R., da Fonseca E.C., Silva L.E., de Queiroz Chaves Lourenço S.: Evaluation of mast cells in periapical cysts, dentigerous cysts, and keratocystic odontogenic tumors. *J. Oral. Pathol. Med.* 2012. 41, 8, 630–6.
100. Okayama Y., Kirshenbaum A.S., Metcalfe D.D.: Expression of a functional high-affinity IgG receptor, Fc gamma RI, on human mast cells: Up-regulation by IFN-gamma. *J. Immunol.* 2000. 164, 8, 4332–9.
101. Okiji T., Kawashima N., Kosaka T., Kobayashi C., Suda H.: Distribution of Ia antigen-expressing nonlymphoid cells in various stages of induced periapical lesions in rat molars. *J. Endod.* 1994. 20, 1, 27–31.
102. Olejnik A.K., Brzezińska-Błaszczyk E.: *Proteinazy mastocytów*. PL Polish. *Post. Hig Med Dośw.* 1998. 52, 4, 381–399.
103. De Oliveira Rodini C., Batista A.C., Lara V.S.: Comparative immunohistochemical study of the presence of mast cells in apical granulomas and periapical cysts: possible role of mast cells in the course of human periapical lesions. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod.* 2004. 97, 1, 59–63.
104. Patella V., Casolaro V., Björck L., Marone G.: Protein L. A bacterial Ig-binding protein that activates human basophils and mast cells. *J. Immunol.* 1990. 145, 9, 3054–61.
105. De Pater-Huijsen F.L., Pompen M., Jansen H.M., Out T.A.: Products from mast cells influence T lymphocyte proliferation and cytokine production--relevant to allergic asthma? *Immunol. Lett.* 1997. 57, 1-3, 47–51.

- 
106. Payne V., Kam P.C.A.: Mast cell tryptase: a review of its physiology and clinical significance. *Anaesthesia* 2004. 59, 7, 695–703.
  107. Piattelli A., Artese L., Rosini S., Quaranta M., Musiani P.: Immune cells in periapical granuloma: morphological and immunohistochemical characterization. *J. Endod.* 1991. 17, 1, 26–9.
  108. Piattelli A., Artese L.: Ultrastructural analysis of periapical granulomas. *Bull. Group. Int. Rech. Sci. Stomatol. Odontol.* 37, 1-2, 27–30.
  109. Ramachandran Nair P.N., Pajarola G., Schroeder H.E.: Types and incidence of human periapical lesions obtained with extracted teeth. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod.* 1996. 81, 1, 93–102.
  110. Rdzany R.S., Brzezińska-Błaszczyk E.: The mast cells phagocytose bacteria. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2004. 58, 398–404.
  111. Sawicki W.: *Tkanka łączna właściwa.*, W: Sawicki W. (red.), *Histologia.*, Warszawa, PZWL, 2005, 126–129.
  112. Shear M., Speight P.: *Cysts of the oral and maxillofacial region.*, Oxford, Blackwell Publishing, 2007, ISBN 978-14051-4937-2
  113. Sher A., Hein A., Moser G., Caulfield J.P.: Complement receptors promote the phagocytosis of bacteria by rat peritoneal mast cells. *Lab. Invest.* 1979. 41, 6, 490–9.
  114. Sher A., McIntyre S.L.: Receptors for C3 on rat peritoneal mast cells. *J. Immunol.* 1977. 119, 2, 722–5.
  115. Shin J.S., Abraham S.N.: Co-option of endocytic functions of cellular caveolae by pathogens. *Immunology* 2001. 102, 1, 2–7.
  116. Shin J.S., Gao Z., Abraham S.N.: Bacteria-host cell interaction mediated by cellular cholesterol/glycolipid-enriched microdomains. *Biosci. Rep.* 1999. 19, 5, 421–32.
  117. Shin S.-J., Lee J.-I., Baek S.-H., Lim S.-S.: Tissue levels of matrix metalloproteinases in pulps and periapical lesions. *J. Endod.* 2002. 28, 4, 313–5.
  118. Simon J.H.: Incidence of periapical cysts in relation to the root canal. *J. Endod.* 1980. 6, 11, 845–8.
  119. Smith G., Smith A.J., Basu M.K.: Mast cells in human odontogenic cysts. *J. Oral. Pathol. Med.* 1989. 18, 5, 274–8.
  120. Smith G., Smith A.J., Browne R.M.: Glycosaminoglycans in fluid aspirates from odontogenic cysts. *J. Oral. Pathol.* 1984. 13, 6, 614–21.

121. Smith G., Smith A.J., Browne R.M.: Histochemical studies on glycosaminoglycans of odontogenic cysts. *J. Oral. Pathol.* 1988. 17, 2, 55–9.
122. Smith S.J., Levi-Schaffer F.: Mast cell-eosinophil-fibroblast crosstalk in allergic inflammation. *Chem. Immunol.* 2000. 78, 81–92.
123. Sol M.A., Tkaczuk J., Voigt J.J., Durand M., Sixou M., Maurette A., Thomsen M.: Characterization of lymphocyte subpopulations in periapical lesions by flow cytometry. *Oral. Microbiol. Immunol.* 1998. 13, 4, 253–8.
124. Sörbo J., Jakobsson A., Norrby K.: Mast-cell histamine is angiogenic through receptors for histamine1 and histamine2. *Int. J. Exp. Pathol.* 1994. 75, 1, 43–50.
125. Strona internrtowa: <http://www.medeco.de/pl/stomatologia/operacyjne-usuwanie-torbieli/torbiel-korzeniowa/>.
126. Sundqvist G., Carlsson J., Herrmann B., Tärnvik A.: Degradation of human immunoglobulins G and M and complement factors C3 and C5 by black-pigmented *Bacteroides*. *J. Med. Microbiol.* 1985. 19, 1, 85–94.
127. Supajatura V., Ushio H., Nakao A., Akira S., Okumura K., Ra C., Ogawa H.: Differential responses of mast cell Toll-like receptors 2 and 4 in allergy and innate immunity. *J. Clin. Invest.* 2002. 109, 10, 1351–9.
128. Supajatura V., Ushio H., Nakao A., Okumura K., Ra C., Ogawa H.: Protective roles of mast cells against enterobacterial infection are mediated by Toll-like receptor 4. *J. Immunol.* 2001. 167, 4, 2250–6.
129. Supajatura V., Ushio H., Wada A., Yahiro K., Okumura K., Ogawa H., Hirayama T., Ra C.: Cutting edge: VacA, a vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori*, directly activates mast cells for migration and production of proinflammatory cytokines. *J. Immunol.* 2002. 168, 6, 2603–7.
130. Taylor A.C.: Collagenolysis in cultured tissue. II. Role of mast cells. *J. Dent. Res.* 50, 5, 1301–6.
131. Teronen O., Hietanen J., Lindqvist C., Salo T., Sorsa T., Eklund K.K., Sommerhoff C.P., Ylipaavalniemi P., Kontinen Y.T.: Mast cell-derived tryptase in odontogenic cysts. *J. Oral. Pathol. Med.* 1996. 25, 7, 376–81.
132. Teronen O., Salo T., Laitinen J., Törnwall J., Ylipaavalniemi P., Kontinen Y.T., Hietanen J., Sorsa T.: Characterization of interstitial collagenases in jaw cyst wall. *Eur. J. Oral. Sci.* 1995. 103, 3, 141–7.

133. Thesleff I.: Epithelial cell rests of Malassez bind epidermal growth factor intensely. *J. Periodontal Res.* 1987. 22, 5, 419–21.
134. Thoma K.H.: A histo-pathological study of the dental granuloma and diseased root apex. *J. Natl. Dent. Assoc.* 1917. 4, 1075–1090.
135. Thomas L.: *The lives of a cell. The notes of the biology watcher.*, New York, Bantam Books Inc., 1974, ISBN 0-553-13972-X.
136. Tkaczyk C., Villa I., Peronet R., David B., Chouaib S., Mécheri S.: In vitro and in vivo immunostimulatory potential of bone marrow-derived mast cells on B- and T-lymphocyte activation. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2000. 105, 1 Pt 1, 134–42.
137. Toller P.A.: Experimental investigation into factors concerning the growth of cysts of the jaws. *Proc. R. Soc. Med.* 1948. 41, 10, 681–8.
138. Torabinejad M., Kettering J.D.: Identification and relative concentration of B and T lymphocytes in human chronic periapical lesions. *J. Endod.* 1985. 11, 3, 122–5.
139. Valent P., Bettelheim P.: Cell surface structures on human basophils and mast cells: biochemical and functional characterization. *Adv. Immunol.* 1992. 52, 333–423.
140. Varadaradjalou S., Féger F., Thieblemont N., Hamouda N. Ben, Pleau J.-M., Dy M., Arock M.: Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 differentially activate human mast cells. *Eur. J. Immunol.* 2003. 33, 4, 899–906.
141. Villa I., Skokos D., Tkaczyk C., Peronet R., David B., Huerre M., Mécheri S.: Capacity of mouse mast cells to prime T cells and to induce specific antibody responses in vivo. *Immunology* 2001. 102, 2, 165–72.
142. Watanabe Y., Todome Y., Ohkuni H., Sakurada S., Ishikawa T., Yutsudo T., Fischetti V.A., Zabriskie J.B.: Cysteine protease activity and histamine release from the human mast cell line HMC-1 stimulated by recombinant streptococcal pyrogenic exotoxin B/streptococcal cysteine protease. *Infect. Immun.* 2002. 70, 7, 3944–7.
143. Wayner E.A., Carter W.G., Piotrowicz R.S., Kunicki T.J.: The function of multiple extracellular matrix receptors in mediating cell adhesion to extracellular matrix: preparation of monoclonal antibodies to the fibronectin receptor that specifically inhibit cell adhesion to fibronectin and react with platelet gly. *J. Cell Biol.* 1988. 107, 5, 1881–91.

144. Yanagisawa S.: Pathologic study of periapical lesions 1. Periapical granulomas: clinical, histopathologic and immunohistopathologic studies. *J. Oral. Pathol.* 1980. 9, 5, 288–300.
145. Zanetti M.: Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity. *J. Leukoc. Biol.* 2004. 75, 1, 39–48.

## 8. STRESZCZENIE

Wstęp: Przewlekłe zapalenia okołowierzchołkowe zębów są jednymi z częściej występujących niezłośliwych patologii niszczących kości szczęk. Wśród nich wyróżniamy m. in. zapalenia typu ziarninowego i torbiele. Oba typy zmian mają charakter rozrostowy. W ziarniniakach główną masę zmiany stanowi ziarnina zapalna, natomiast w torbielach – płyn torbieli. Torbiele uważane są za zapalenia bardziej zaawansowane pod względem czasu trwania oraz trudniejsze do leczenia zachowawczo-chirurgicznego. Powstawanie obu typów zmian zostało wielokrotnie opisane w literaturze, choć mechanizm wzrostu - szczególnie torbieli korzeniowej zapalnej – nie jest ostatecznie wyjaśniony. Wiadome jest, że pewną rolę pełnią tu komórki powszechnie bytujące w zmianach zapalnych. Komórki tuczne są jednymi z wielu występujących w tego typu zapaleniach. Wydzielają one szereg substancji, dzięki którym z jednej strony przeciwdziałają zapaleniu, z drugiej natomiast powodują destrukcję tkanek gospodarza.

Cele pracy: Celem pracy jest określenie liczby mastocytów zarówno w ziarninach jak i torbielach okołowierzchołkowych oraz porównanie uzyskanych wyników. Następnie próba określenia roli mastocytów w zależności od typu zmiany i liczby komórek tucznych. Celem tej pracy jest również porównanie metody barwienia metodą Giemsy (histochemicznej) oraz przeciwciałem CD 117 (immunohistochemicznej) pod kątem liczby mastocytów widzianej w każdej z metod.

Materiał i metody: Przebadano 30 preparatów ziarniniaków okołowierzchołkowych oraz 30 preparatów torbieli zapalnych zębopochodnych. Wszystkie preparaty przygotowano metodą FFPE (formalin fixed parafin embedded), bloczki parafinowe cięto na skrawki grubości 4 mikrometrów, następnie barwiono metodą Giemsy (Giemsa Staining Kit, Ventana) oraz przeciwciałem CD 117 (Polyclonal Rabbit Anti-Human c-kit, Dako). Łącznie uzyskano 120 preparatów, w każdym wyznaczono po 3 hot spoty, każdy podzielono na 4 pola widzenia. W każdym polu widzenia liczono komórki tuczne. Do badań użyto mikroskopu Olympus CX 41, powiększenie 400-krotne.

Wyniki: W torbielach zapalnych okołowierzchołkowych uzyskano średnio 3-krotnie większą liczbę mastocytów niż w ziarniniakach. W barwieniu Giemsy zaobserwowano średnio 2-krotnie mniejszą liczbę tych komórek niż w barwieniu przeciwciałem CD 117.

Wnioski: Barwienie immunohistochemiczne przeciwciałem CD 117 jest dokładniejsze i wykrywa większą liczbę mastocytów niż barwienie histochemiczne metodą Giemsy. Większa liczba komórek tucznych w torbielach zębopochodnych niż w ziarniniakach może świadczyć o próbie ograniczenia bardziej zaawansowanego w czasie procesu zapalnego przez gospodarza, jako że główną

funkcją tych komórek jest obrona organizmu. Potencjalna rola komórek tucznych w obu rodzajach zmian nie dotyczy tylko niszczenia tkanek okołowierchołkowych, ale także ich reparacji.



## 9. SUMMARY

Introduction: Chronic periapical periodontitis is one of the most common non-malignant pathologies concerning destruction of jaw bones. Within chronic periapical periodontitis granulomas and periapical cysts are distinguished. Mast cells, which produce a large quantity of various mediators, are considered to be present in these inflammations. These substances, on one hand are able to repair periapical bone loss, on the other - induce its destruction.

Aims: The aim of this study is to determine and compare the number of mast cells in both granulomas and periapical cysts and attempt to determine their potential role depending on which lesion they are found in. Another aim is to compare two staining methods: histochemical (Giemsa) and immunohistochemical (CD 117 Antibody) according to the number of mast cells determined in each of them.

Material and methods: 60 specimens of periapical lesions were examined: 30 periapical granulomas and 30 periapical cysts. The specimens were formalin fixed paraffin embedded (FFPE). In the next stage they were cut into 4 micrometer slides and stained by Giemsa method (Giemsa Staining Kit, Ventana) and CD 117 antibody (Polyclonal Rabbit Anti-Human c-kit, Dako). In microscope (Olympus CX 41) examination 3 hot spots were indicated in each of 120 specimens, every hot spot was divided into 4 high power fields of view. The number of mast cells was counted in each field of view in 400 x magnification.

Results: In periapical cysts the number of mast cells was 3 times higher than than in periapical granulomas. Giemsa staining revealed 2 times lower numbers of mast cells than CD 117 staining.

Conclusions: Immunohistochemical staining by CD 117 antibody is considered to be more specific than histochemical staining by Giemsa method. According to the results of this study, higher numbers of mast cells in periapical cysts than in periapical granulomas may indicate their influence on reduction of inflammation since the main role of mast cells is host defence. However, the potential role of mast cells in these lesions may be not only destruction but also reparation of periapical tissues.

