

## МАСТОЦИТИ У ПАРОДОНТОЛОГИЈИ

Марјановић Д.<sup>1</sup>, Анђелковић З.<sup>2</sup>, Виденовић Н.<sup>1</sup>, Михаиловић Б.<sup>1</sup>, Матвијенко В.<sup>1</sup>, Лазих Д.<sup>1</sup>, Дубовина Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Стоматолошка клиника, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

<sup>2</sup>Институт за хистологију и ембриологију, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

## MAST CELLS IN PERIODONTAL DISEASE

Марјановић Д.<sup>1</sup>, Анђелковић З.<sup>2</sup>, Виденовић Н.<sup>1</sup>, Михаиловић Б.<sup>1</sup>, Матвијенко В.<sup>1</sup>, Лазих Д.<sup>1</sup>, Дубовина Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Clinic of Stomatology, Medical faculty Pristina, Kosovska Mitrovica

<sup>2</sup>Institute of Histology and Embryology, Medical faculty Pristina, Kosovska Mitrovica

## SUMMARY

Periodontal disease is a chronic inflammatory disease that is largely attributable to infections with gram-negative bacteria and is characterised by both gingival inflammation and alveolar bone resorption. Beside macrophages, the second most common cells of the gingival inflammatory infiltrate are mast cells. Mast cells are heterogenous cell population which live from six months to one year. These cells are activated by different immunologic and non-immunologic signals. Activated mast cells can secrete a range of substances that regulate angiogenesis, tissue remodeling and wound healing, which include both degradation and synthesis of tissue components. Apart from that, mast cells have an important role in phagocytosis, antigen processing and presentation to T-cells. It is confirmed that gingival mast cells can express matrix metalloproteinases (MMPs) and the tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMP-1 and TIMP-2. This indicates that mast cells are likely to play an important role in inflammation and tissue degradation in periodontal diseases.

**Key words:** Periodontal disease, Mast cells, Matrix metalloproteinases, Inflammation.

## САЖЕТАК

Пародонтопатија је хронична запаљенска болест, узрокована инфекцијом грам-негативним бактеријама, која се одликује запаљењем гингиве и ресорпцијом алвеоларне кости. Уз макрофаге, најбројније ћелије гингивалног инфламаторног инфилтрату су мастоцити. Мастоцити су хетерогена ћелијска популација која има животног век од шест месеци до годину дана. Ове ћелије се активирају под утицајем различитих имунолошких и неимунолошких сигнала. Активирани мастоцити секретују мноштво супстанци које регулишу ангиогенезу, ремоделирање ткива и зацељење рана путем деградације и синтезе ткивних компоненти. Поред тога, мастоцити врше фагоцитозу, процесуирање антигена и презентовање истих Т-лимфоцитима. Потврђено је да гингивални мастоцити могу експримирати матриксну металопротеиназу (ММП) и ткивне инхибиторе металопротеиназа, TIMP-1 и TIMP-2. То указује да мастоцити вероватно играју важну улогу у инфламацији и ткивној деградацији у пародонтопатији.

**Кључне речи:** Пародонтопатија, Мастоцити, Матриксне металопротеиназе, Запаљење

## УВОД

Пародонтопатија (периодонтална болест) је хронично инфламаторно обољење потпорног апарата зуба праћено деструкцијом алвеоларне кости и екстрацелуларног матрикса гингиве. Запаљење узрокује читав спектар бактерија међу којима се по значају истичу следеће грам-негативне врсте и сојеви: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Wollinella recta* итд.(1). Иако су пародонтопатогене бактерије примарни етиолошки фактор у пародонтопатији, прогресију и клиничку презентацију болести детерминише одговор имуног система оболелог. Током читавог процеса у гингиви оболелог присутан је инфламаторни ћелијски инфилтрат у коме

се у значајном броју налазе Т- и В-лимфоцити, плазмаци и неутрофили, али су по правилу најбројније ћелије запаљенског жаришта макрофаги и мастоцити (2). Мастоцити су лутајуће ћелије везивног ткива у чијим метахроматским гранулама су депоноване имунорегулаторне супстанце. Ове ћелије имају необично дуг животног век (шест месеци до годину дана) и стратешки су распоређене у ткивима која граниче унутрашњу телесну средину од спољашње (3). Мастоцити партиципирају и у урођеном и у стеченом имунитету чинећи прву линију одбране против бактеријских и паразитарних инфекција (4,5, 6,7). Познато је да мастоцити секретују бројне супстанце које учествују у ангиогенези, ткивном ремоделирању, зацељењу рана, алергијској инфлама-

цији, периферној толеранцији и развоју аутоимуних обољења (8). Новија истраживања указују да мастоцити имају важну улогу у гингивалној хомеостазии и у прогресији пародонтопатије (9).

#### Морфофункционална хетерогеност мастоцита

Мастоцити су хетерогена ћелијска популација која се код глодара на бази ткивне дистрибуције дели на две субпопулације: мастоцити везивног ткива и мастоцити мукозе (3). Подела људских мастоцита врши се на основу садржаја неутралних серин протеаза и по овом критеријуму разликују се мастоцити типа ТС и мастоцити типа Т. Мастоцити типа ТС (МСТС) налазе се првенствено у дерму и интестиналној субмукози; они у својим гранулама садрже триптазе, химазе, карбокси-пептидазе и протеазе сличне катепсину Г (10). Мастоцити типа Т (МСТ) нађени су првенствено у цревној слузокожи и алвеоларном зиду, а од неутралних протеаза садрже искључиво триптазе (11). Употребом имунохистохемијских техника Weidner и Austen (12) су идентификовали и трећу субпопулацију мастоцита МСС, која је богата у химазама, а релативно оскудна у триптазама. МСС су у малом броју (1-5%) присутни у кожи, лимфним чворовима, плућним алвеолама и цревној мукози, али су у знатно већем проценту (око 17%) нађени у цревној субмукози (12). Поред разлика у експресији протеаза, мастоцити се разликују и по садржају површинских рецептора, цитокинском профилу, одговору на физиолошке и патолошке стимулусе и реакцији на алергене (13). Функционални значај фенотипске хетерогености мастоцита није довољно расветљен. Сматра се да су сви мастоцити у стању да врше фагоцитозу, процесуирање протеинског садржаја и презентацију антигена Т-лимфоцитима. (4,5,7,14).

#### Активација мастоцита

Мастоцити се могу активирати на различите начине, а најбоље је проучен механизам "алергијске активације" преко површинских рецептора за имуноглобулин Е (IgE) (15). Поред овог, постоје и други имунолошки и неимунолошки сигнали који доводе до реакције мастоцита, као што су сигнализација преко Fcγ рецептора за IgG, затим активација преко цитокина, хемокина, ендогених и егзогених пептида, хемијских и физичких стимулуса итд. (16, 17). Реакцију мастоцита може испровоцирати и већи број биолошких супстанци као што су бактерије и њихови продукти (18), вируси (19), паразити, продукти активације комплекса или компоненте животињског отрова (20) које у принципу изазивају одговор урођеног имунитета.

#### Медијатори мастоцита

Мастоцити ослобађају различите биолошке активне супстанце које се могу разврстати у две групе. Првој групи припадају медијатори депоновани у гранулама мастоцита, као што су хистамин, серотонин, протеоглици, киселе хидролазе, неутралне протеазе, али и поједини цитокини (нпр. фактор некрозе тумора - TNF). Ови медијатори ослобађају се непосредно након

активације мастоцита. Другој групи припадају медијатори који се синтетишу после активације ћелије и секретишу без претходног складиштења у гранулама; у ову групу спадају метаболити арахидонске киселине (леукотријени B<sub>4</sub> и C<sub>4</sub>, простагландин D<sub>2</sub> и активирајући фактор тромбоцита), бројни цитокини, хемокини и фактори раста који испољавају бројне проинфламаторне, антиинфламаторне и имунорегулаторне ефекте (21,22). За развој и ток пародонтопатије посебан значај би могли имати протеолитички ензими матриксне металопротеиназе (ММП). ММП су ендонуклеазе које разлажу колаген и на тај начин подстичу ћелијске миграције, зарастање рана и ткивно ремоделирање, а доказан је и њихов значај у патогенези атеросклерозе, артритиса, гломерулонефритиса и у инвазији канцерских ћелија (23, 24, 25, 26). Уједно, матриксне металопротеиназе су активатори проинфламаторних медијатора као што су TNF-α или интерлеукин-1β (24, 25, 27) који се излучује као прекурсорни молекул који захтева протеолитичку активацију. Активација поменутих медијатора подупире инфламацију, ћелијску акумулацију и ткивну деградацију. ММП се секретују у инактивној проензимској форми, а активирају се под утицајем плазмينا или активираних ММП (24, 25).

#### Улога мастоцита у имуну одговору на бактеријске инфекције

Већ дуго је познато да мастоцити изазивају низ штетних ефеката у алергијским реакцијама организма (3, 9), али њихов физиолошки значај и протективна улога у имуну одговору нису добро дефинисани. У последњих петнаестак година Malaviya и Echtenacher са сарадницима објавили су низ публикација које сугеришу значајну имунолошку улогу мастоцита, на шта упућују следеће њихове карактеристике: а) концентрација у слузокожама изложеним деловању патогена; б) способност интернализације, обраде и презентује антигене; ц) способност ослобађања инфламаторних медијатора механизмима независним од IgE који дејствује у алергијским стањима. Malaviya и сар. (28, 29) су показали да мастоцити играју критичну улогу у одбрани од грам-негативних бактерија (нпр. *Escherichia coli*) путем фагоцитозе, презентације бактеријских антигена Т-лимфоцитима и секреције антимикробних пептида. Такође, показано је да у сепси изазваној грам-негативним бактеријама мастоцити ослобађају TNF-α и леукотријене (30, 31). Ови медијатори стимулишу инфлуks неутрофила у жариште инфекције чиме доприносе елиминацији бактерија. TNF-α мастоцитног порекла повећава број лимфоцита у локалним лимфним чворовима (31).

Неспорно је да мастоцити захтевају активацију да би испољили протективни ефекат, а активацију могу испровоцирати не само патогени, већ и сигнали настали у самом организму, као што су компоненте комплекса или ендогени пептиди (14, 18).

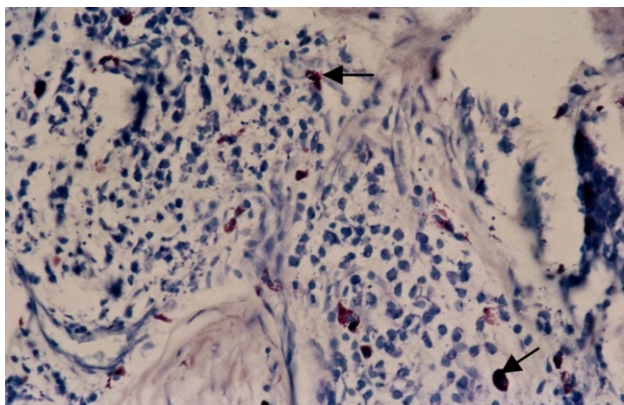
#### Истраживања гингивалних мастоцита

Мастоцити су нађени у различитим деловима здраве и оболеле гингиве (32, 33, 34, 35). Они су расејани по ламини проприји гингиве, често смештени уз ен-

дотелне ћелије где контролишу ангиогенезу и инфлукс ћелија, али су нађени и субепително па чак и у гингивалном епителу (36, 37). Подаци о броју мастоцита у здравој и инфламираној гингиви су контрадикторни. Поједини аутори констатују пораст броја мастоцита у пародонтопатији (38, 39, 40, 41, 42, 43), док други извештавају о њиховој смањеној густини (44, 45, 46, 47, 48). За идентификацију мастоцита коришћене су хистохемијске и имунохистохемијске методе. Batista (42) и Walls (49) су сагласни да је имунохистохемијска метода бојења на триптазу осетљивија од хистохемијске методе бојења толуидин плавим.

Недавно су Naesse и сар. (50) открили да су гингивални мастоцити главни извор матриксних металопротеаза у пародонцијуму, што је у сагласности са претходно објављеним резултатима Di Girolamo и Wakefielda (51). Исти аутори су установили да мастоцити снажно експримују MMP-1, MMP-2 и MMP-8. Матриксне металопротеиназе MMP-1 и MMP-8 су колагеназе типа I које иницирају деградацију колагених влакана у ламини проприји гингиве. MMP-2 је колагеназа тип IV одговорна за деструкцију базалне ламине чији је важан састојак колаген тип IV; разградњом базалне ламине ови ензими олакшавају ћелијске миграције и ремоделирање гингивалног ткива. MMP-2 активира латентну MMP-1, IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 1 и TNF- $\alpha$  чиме индиректно подстиче инфламацију (23, 24, 52). Интересантно је да се овај ензим активира под утицајем мастоцитних триптаза и химаза, што указује на чињеницу да мастоцити имају способност аутокрине активације, односно саморегулације. Даље, Naesse и сарадници (50) су установили да је пропорција гингивалних мастоцита који снажно експримују MMP знатно повећана код оболелих од пародонтопатије у односу на особе са здравом гингивом, на основу чега се може закључити да мастоцити имају кључну улогу у патогенези пародонтопатије.

Установљено је да мастоцити синтетишу и ткивне инхибиторе металопротеиназа - TIMP-1 и TIMP-2 (50). TIMP-1 је нађен у већини гингивалних мастоцита (86-100%). Он контролише активност MMP-1 и MMP-2 и на тај начин може да модулира интензитет колагенолизе и степен ткивне деструкције (53, 54).



Слика 1. - Мастоцити у гингиви (стрелице).  
Una-Giemsa бојење, увећање око 400X (43)

## ЗАКЉУЧАК

Постоји мноштво чињеница које указују да мастоцити имају врло важну, ако не и кључну улогу у патогенези пародонтопатије. Најпре, они су уз макрофаге најбројније ћелије запаљенског инфилтрата. Концентрација мастоцита уз ендотел крвних судова омогућава им да контролишу ангиогенезу и подстичу инфлукс ћелија имуног система. Поред тога, ове ћелије се могу активирати различитим сигналимa, а после активације могу секретовати низ медијатора инфламације који директно (нпр. матриксне металопротеиназе) или индиректно изазивају колагенолизу и деструкцију пародонталних ткива. Уз то, постоје потврде да мастоцити учествују у урођеном и адаптивном имуном одговору путем секреције проинфламаторних, антиинфламаторних и имуно-регулаторних супстанци, фагоцитовањем бактерија и презентовањем њихових антигена Т-лимфоцитима.

## ЛИТЕРАТУРА

- Williams DM, Hughes FJ, Odell EW, Farthing PM. Pathology of Periodontal Disease. Oxford University Press, Oxford New York, 2003.
- Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. Lab Invest 1976;34:235-49.
- Sur R, Cavender D, Malaviya R. Different approaches to study mast cell functions. Inter Immunopharmacol 2007;7(5): 555-67.
- Echtenacher B, Mannel DN, Hultner L. Critical protective role of mast cells in a model of acute septic peritonitis. Nature 1996;381:757.
- Abraham SN, Malaviya R. Mast cell modulation of the innate immune response to enterobacterial infection. Adv Exp Med Biol 2000;479: 91-105.
- Nilsson G, Metcalfe DD. Contemporary issues in mast cell biology. Allergy Asthma Proc 1996;17:59-63.
- Abraham SN, Arock M. Mast cells and basophils in innate immunity. Semin Immunol 1998;10:373-81.
- Galli SJ. Mast cells and basophils. Curr Opin Hematol 2000;7:32-9.
- Steinsvoll S, Helgeland K, Schenck K. Mast cells a role in periodontal diseases? J Clin Periodontol 2004; 31(6):413-19.
- Irani AM, Goldstein SM, Wintroub BU, Bradford T, Schwartz LB. Human mast cells carboxypeptidase. Selective localization to MCTC cells. J Immunol 1991;147: 247-53.
- Irani AM, Bradford TR, Kepley CL, Schechter NM, Schwartz LB. 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;37:1509-15.
- Weidner N, Austen KF. Heterogeneity of mast cells at multiple body sites. Fluorescent determination of avidin binding and immunofluorescent determination of chymase, tryptase, and carboxypeptidase content. Pathol Res Pract 1993;189: 156-62.
- Malaviya R, Abraham SN. Clinical implications of mast cell-bacteria interaction. J Mol Med 1998;76:617-23.
- Henz BM, Maurer M., Lippert U, Worm M, Babina M. Mast cells as initiators of immunity and host defense. Exp Dermatol 2001;10:110
- Rivera J, Gilfillan AM. Molecular regulation of mast cell

- activation. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:1214-25.
16. Gilfillan AM, Tkaczyk C. Integrated signalling pathways for mast-cell activation. *Nat Rev Immunol* 2006; 6:218-30.
  17. Galli SJ, Nakae S, Tsai M. Mast cells in the development of adaptive immune response. *Nat Immunol* 2005;6:135-42.
  18. Marshall JS. Mast-cell responses to pathogens. *Nat Rev Immunol* 2004;4:787-99.
  19. Galli SJ, Kalesnikoff J, Grimbaldston MA, Piliponsky AM, Williams CM, Tsai M. Mast cells as 'tunable' effector and immunoregulatory cells: recent advances. *Annu Rev Immunol* 2005;23:749-86.
  20. Metz M, Piliponsky AM, Chen CC, Lammel V, Abrink M, Pejler G, Tsai M, Galli SJ. Mast cells can enhance resistance to snake and honeybee venoms. *Science* 2006;313:526-30.
  21. Grimbaldston MA, Metz M, Yu M, Tsai M, Galli SJ. Effector and potential immunoregulatory roles of mast cells in IgE-associated acquired immune responses. *Curr Opin Immunol* 2006;18:751-60.
  22. Maurer M, Theoharides T, Granstein RD, Bischoff SC, Bienenstock J, Henz B et al. What is the physiological function of mast cells? *Ex Dermatol* 2003;12:886-910.
  23. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, Engler JA. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993;4:197-250.
  24. Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem* 1997;378:151-60.
  25. Parsons SL, Watson SA, Brown PD, Collins HM, Steele RJ. Matrix metalloproteinases. *Brit J Surg* 1997;84:160-6.
  26. McCawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: multifunctional contributors to tumor progression. *Mol Med Today* 2000;6:149-56.
  27. Matrisian LM, Ganser GL, Kerr LD, Pelton RW, Wood LD. Negative regulation of gene expression by TGF-beta. *Mol Reprod Dev* 1992;32:111-20.
  28. Malaviya R, Twosten NJ, Ross EA, Abraham SN, Pfeifer JD. Mast cells process bacterial Ags through a phagocytic route for class I MHC presentation to T cells. *J Immunol* 1996;156:1490-6.
  29. Malaviya R, Ross E, Jakschik BA, Abraham SN. Mast cell degranulation induced by type 1 fimbriated *Escherichia coli* in mice. *J Clin Invest* 1994;93:1645-53.
  30. Malaviya R, Ikeda T, Ross E, Abraham SN. Mast cell modulation of neutrophil influx and bacterial clearance at sites of infection through TNF-alpha. *Nature* 1996;381:77-80.
  31. Malaviya R, Abraham SN. Role of mast cell leukotrienes in neutrophil recruitment and bacterial clearance in infectious peritonitis. *J Leukoc Biol* 2000;67:841-6.
  32. Carranza FAJ, Cabrini RL. Mast cells in human gingiva. *Oral Surg* 1995;8:109-39.
  33. Shapiro S, Ulmansky M, Scheuer M. Mast cell population in gingivae affected by chronic destructive periodontal disease. *Periodontics* 1969;40:27-68.
  34. Robinson LP, De Marco TJ. Alteration of mast cell densities in experimentally inflamed human gingivae. *J Periodontol* 1972;43:614-22.
  35. Walsh LJ, Davis MF, Xu LJ, Savage NW. Relationship between mast cell degranulation and inflammation in the oral cavity. *J Oral Pathol Med* 1995;24: 266-72.
  36. Lin TJ, Befus AD. Mast cells and eosinophils in mucosal defenses and pathogenesis. In: *Mucosal Immunology*, eds. Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J. McGraw-Hill 1999;469-82.
  37. Steinsvoll S, Halstensen TS, Schenck K. Extensive expression of TGF-beta1 in chronically-inflamed periodontal tissue. *J Clin Periodontol* 1999;26:366-73.
  38. Dewar MR. Mast cells in gingival tissue. *J Periodont* 1955; 29:67-70.
  39. Shapiro S, Ulmansky M, Scheuer M. Mast cell population in gingivae affected by chronic destructive periodontal disease. *Periodontics* 1996;40:27-68.
  40. Zachrisson BV. Mast cells of the human gingiva. IV. Experimental gingivitis. *J Periodont Res* 1969;4:4655
  41. Kennett CN, Cox SW, Eley BM, Osman IA. Comparative histochemical and biochemical studies of mast cell tryptase in human gingival. *J Periodontol* 1993;64: 870-7.
  42. Batista AC, Rodini CO, Lara VS. Quantification of mast cells in different stages of human periodontal disease. *Oral Diseases* 2005;11(4):249-54.
  43. Marjanović D. Analiza zastupljenosti glikogena i mastocita u gingivi bolesnika sa parodontopatijom. Magistarska teza, Kosovska Mitrovica, 2006.
  44. Carranza FAJ, Cabrini RL. Mast cells in human gingiva. *Oral Surg* 1955;8:109-39.
  45. Zachrisson BV. Mast cells of the human gingiva. II. Metachromatic cells at low pH in healthy and inflamed tissue. *J Periodont Res* 1967;2:87-105.
  46. Shelton LE, Hall WB. Human gingival Mast cells. Effects of chronic inflammation. *J Periodont Res* 1968;2:214-23.
  47. Robinson LP, De Marco TJ. Alteration of mast cell densities in experimentally inflamed human gingivae. *J Periodontol* 1972;43:614-22.
  48. Gemmell E, Carter CL, Seymour GJ. Mast cells in human periodontal disease. *J Dent Res* 2004;83:38-47.
  49. Walls AF, Jones DB, Williams JH, Church MK, Holgate ST. Immunohistochemical identification of mast cells in formaldehyde-fixed tissue using monoclonal antibodies specific for tryptase. *J Pathol* 1990;162:119-26.
  50. Naesse EP, Schreurs O, Helgeland K, Schenck K, Steinsvoll S. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival mast cells in persons with and without HIV-infection. *J Periodont Res* 2003;38, 575-82.
  51. Di Girolama N, Wakefield D. In vitro and in vivo expression of interstitial collagenase/MMP-1 by human mast cells. *Dev Immunol* 2000;7:131-42.
  52. Johnson JL, Jackson CL, Angelini GD, George SJ. Activation of matrix-degrading metalloproteinases by mast cell proteases in atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1707-15.
  53. Martignetti JA, Aqeel AA, Sewairi WA, Boumah CE, Kambouris M, Mayouf SA et al. Mutation of the matrix metalloproteinase 2 gene (MMP2) causes a multicentric osteolysis and arthritis syndrome. *Nat Genet* 2001;28:261-5.
  54. Wielockx B, Lannoy K, Shapiro SD, Itoh T, Itohara S, Vandekerckhove J, Libert C. Inhibition of matrix metalloproteinases blocks lethal hepatitis and apoptosis induced by tumor necrosis factor and allows safe antitumor therapy. *Nat Med* 2002;