رابطه حضور، غلظت و نسبت IgA با وسعت ضایعات مزمن پری اپیکال دندان انسان

دکتر شهرام عظیمی*، دکتر ماندانا ستاری**، مریم جمشیدیان تهرانی***

پژوهنده / شماره یازدهم / زمستان ۷۷

خلاصه

ضایعه‌های مزمن پری اپیکال از جمله بیماریهای شایع دندان می‌باشند.نظر به حضور عوامل سیستم ایمنی در این ضایعه‌ها، به نظر می‌رسد که علاوه بر میکروارگانیسم‌ها، پاسخهای دفاعی میزبان نیز در آن دخالت داشته باشند. حضور انواع ایمونوگلوبولین‌ها به ویژه IgG و IgA در این ضایعه‌ها فرض دخالت پاسخهای ایمنی هومورال را قوت می‌بخشد.

با توجه به نتایج انتشار یافته در خصوص افزایش غلظت IgA در اگزودای ضایعات کیستی و بزرگ و به منظور یافتن ارتباط احتمالی بین غلظت IgA و علایم بالینی ضایعه‌های مزمن پری اپیکال، مطالعه حاضر در سال ۱۳۷۶ انجام گرفت. ۶۱ ضایعه به صورت غیر احتمالی و آماده در دسترس از بیماران مراجعه کننده به دانشکده‌های دندانپزشکی شهید بهشتی و تهران جمع آوری و پس از تقسیم بندی به دو دسته کوچک (کوچکتر از ۵mm) و بزرگ (بزرگتر از ۱۰mm) بر اساس قطر پرتونگاری ضایعه و درج علایم بالینی، اقدام به جراحی، کشت یک روزه و جمع آوری مایع رویی کشت گردید. با تعیین غلظت ایمونوگلوبولین‌ها در مایع رویی کشت ضایعه‌ها با استفاده از روش SRID، شاهد افزایش معنی‌دار غلظت IgA و همچنین نسبت IgA/IgG در ضایعه‌های بزرگ بوده و بین افزایش غلظت IgA و دیگر علایم بالینی از قبیل سابقهٔ آبسه و تورم، شکایت از درد، سابقه درمان اندو و حضور فیستول رابطهٔ آماری معنی دار به دست نیامد.

با توجه به نتایج فوق به موازات افزایش سنتز IgG در ضایعه‌های بزرگ می‌توان شاهد افزایش غلظت IgA بود که حتی می‌تواند با سرعت بیشتری انجام گیرد. در مورد علت افزایش سنتز این کلاس ایمونوگلوبولین، اطلاعات کامل در دست نمی‌باشد. احتمالاً می‌توان این نقش را به میکروارگانیسم‌ها و به ویژه فرآورده‌های آنتی‌ژنی آنها نسبت داد.

واژگان کلیدی: IgA، ضایعه‌های پری اپیکال، اپکس ریشه دندان

مقدمه

ضایعه‌های مزمن پری اپیکال دندان، یک پاسخ التهابی مزمن هستند که در اطراف اپکس ریشهٔ دندان به دنبال تحلیل بافتهای استخوان آلوئل، سمنتوم، پریودنتال لیگامنت، دنتین و جایگزینی آن با بافت گرانولوماتوز به وجود می‌آیند که گاه این روند با تخریب نسبتاً وسیع پریودنشیوم همراه می‌شود (۱). از سال ۱۹۴۰ که به کشف ارتباط میان باکتریهای موجود در کانال ریشه با پیشرفت ضایعات پری اپیکال موفق گردیدند، باکتریها را به عنوان مهمترین و حتی تنها عامل ایجاد کننده ضایعه‌ها به حساب می‌آوردند (۲). این که اولین بار Jones و Lally در سال ۱۹۸۰ اقدام به کشت ضایعه‌های مزمن پری اپیکال نموده و به سنتز ایمونوگلوبولین‌ها در این ضایعات پی بردند (۳).

به این ترتیب و با توجه به حضور گسترده سایر عوامل سیستم ایمنی بدن در این ضایعه‌ها، احتمال دخالت پاسخهای دفاعی بدن در پاتوژنز این ضایعه‌ها مطرح شد

* گروه اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
** گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی
*** دفتر خدمات پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی

(۳،۴،۵) و با کشف رسوب کمپلکسهای ایمنی در ضایعات مزمن پری اپیکال (۶،۷)، واکنشهای ازدیاد حساسیت تیپ III را یکی از مهمترین راههای دخالت عوامل سیستم ایمنی در ایجاد ضایعه‌های مزمن پری اپیکال در نظر گرفتند (۶،۷،۸).

نظر به بالا بودن غلظت IgG در این ضایعه‌ها، بیش از همه برای این ایمونوگلوبولین در پاتوژنز ضایعه‌های پری اپیکال اهمیت قایل شدند (۳،۹،۱۰) اما با توجه به این که IgA بعد از IgG از بالاترین موارد حضور برخوردار بوده (۳، ۵، ۱۰) و با تعیین حضور IgA ترشحی در اگزودای کانال ریشه و مشخص گردیدن منشأ موضعی آن (۱۱) و با توجه به این که حضور IgA در تسهیل رسوب کمپلکسهای ایمنی و ایجاد واکنشهای ازدیاد حساسیت تیپ III نقش دارد (۱۲)، از این رو در کنار IgG، برای IgA نیز نقش مهمی را در نظر گرفته‌اند.

میزان پلاسماسل‌های تولید کنندهٔ IgA در ضایعات کیستی بزرگ اندکی بالاتر از ضایعه‌های کوچک بوده (۱۳) و در اگزودای حاصل از ضایعه‌های پری اپیکال بزرگ، مقادیر IgG و IgA به طور قابل ملاحظه‌ای بیش از ضایعه‌های کوچک می‌باشد (۱۴). با عنایت به مطالب فوق، تحقیق حاضر بر پایه تعیین حضور، غلظت و نسبت IgA در ضایعات پری اپیکال بزرگ (ضایعه‌هایی که در نمای پرتونگاری قطری بیش از ۱۰ میلی‌متر داشتند) و کوچک (ضایعه‌هایی که دارای قطر پرتونگاری کوچکتر یا مساوی ۵ میلی‌متر می‌باشند) در بیماران مراجعه کننده به دانشکده‌های دندانپزشکی دانشگاههای علوم پزشکی شهید بهشتی و تهران و مطب تخصصی اندو در سال ۷۷-۱۳۷۶ انجام گرفت.

مواد و روشها

تعداد ۶۱ بیمار که طی سال ۷۷-۱۳۷۶ به بخشهای اندو و جراحی دانشکده‌های دندانپزشکی شهید بهشتی و تهران مراجعه کرده و ضمن تشخیص وجود ضایعه مزمن پری اپیکال، عدم وجود هر گونه بیماری عفونی، نقایص سیستم ایمنی و پریودنتال و عدم مصرف داروهای سرکوب کننده و تقویت کننده سیستم ایمنی در آنها محرز گردیده بود، پس از کسب موافقت، انتخاب شدند.

بیماران بر اساس قطر ضایعهٔ رادیولوسنت پری اپیکال در نمای پرتونگاری به دو گروه واجد ضایعات با قطر کوچکتر یا مساوی ۵mm و بزرگتر از ۱۰mm تقسیم شدند و حتی الامکان سعی گردید تا دو گروه از لحاظ جنس و سایر متغیرهای زمینه‌ای (سابقهٔ آبسه، سابقهٔ درمان اندو، حضور درد و فیستول) مشابه یکدیگر باشند. بلافاصله پس از جراحی، ضایعات به داخل لوله‌های استریل حاوی RPMI-1640، سرم جنین گوساله (FCS●) ۱۰٪، آمفوتریسین B (۵mg/ml) و جنتامایسین سولفات (۱۰۰μg/ml) انتقال یافت و در یخچال قرار گرفت. حداکثر طول مدت نگهداری در یخچال، ۷ روز بود.

پس از خارج ساختن نمونه‌ها از یخچال، اقدام به شست و شو، کشت یک روزه نمونه‌ها و جمع‌آوری مایع رویی کشت شد. مراحل شست و شو، کشت نمونه‌ها و جمع آوری مایع رویی کشت مطابق با روش مورد استفاده توسط Baumgartner و همکاران بود (۱۰). جهت اطمینان از مساعد بودن شرایط کشت، از ۳ سری از کشت‌های بافتی، لام هیستوپاتولوژیک تهیه شد که نتایج هر ۳ لام، موید مساعد بودن شرایط کشت بافت بودند.

به منظور تعیین حضور و غلظت ایمونوگلوبولین‌ها در مایع رویی کشت از روش SRID■ استفاده شد که پلیت‌های SRID و محلولهای کالیبراتور مربوط به آن از شرکت بهار افشان تهیه گردیدند.

پس از به دست آوردن غلظت IgA و سایر ایمونوگلوبولین‌ها در مایع رویی کشت نمونه‌ها، برای یافتن رابطهٔ احتمالی میان غلظت و نسبت IgA با متغیرهای مورد نظر اقدام به انجام بررسی‌های آماری با استفاده از T-test و آزمون χ^2 شد.

● Fetal Calf Serum

■ Single Radial Immuno-Diffusion

یافته‌ها

در مجموع ۳۳ ضایعه کوچک با قطر متوسط پرتونگاری ۱/۰۶±۳/۵ میلی‌متر از ۳۳ بیمار با متوسط سنی ۷/۸±۳۴/۵ سال و ۲۸ ضایعه بزرگ با متوسط پرتونگاری ۲/۱±۱۲/۴ میلی‌متر از ۲۸ بیمار با متوسط سنی ۱۰±۳۰ سال جمع‌آوری گردید. در گروه ضایعه‌های کوچک ۵۲٪ از بیماران را زنان و ۴۸٪ را مردان تشکیل می‌دادند و در گروه ضایعه‌های بزرگ این رقم به ترتیب ۴۳٪ و ۵۷٪ برآورد شد.

از مجموع ۶۱ بیمار به سابقهٔ درمان اندو، سابقهٔ آبسه، حضور درد و فیستول، به ترتیب در ۷۲٪، ۳۹٪، ۴۹٪ و ۳۹٪ موارد برخورد گردید.

با مشاهده حضور IgA در مایع رویی کشت در ۵۲٪ از ضایعه‌های کوچک و ۷۱٪ از ضایعه‌های بزرگ، هیچ اختلاف آماری معنی داری از لحاظ حضور IgA بین دو گروه دیده نشد.

میانگین غلظت IgA در ضایعه‌های کوچک و بزرگ به ترتیب برابر ۱/۴±۱/۶mg/ml و ۲/۸±۲/۲mg/ml برآورد گردید که این اختلاف معنی دار بود (P<۰/۰۱)، میانگین غلظت IgA در کل ضایعات برابر ۲/۰۴mg/ml به دست آمد (جداول ۱و۲).

جدول ۱- توزیع فراوانی حضور IgA در ضایعات مزمن پری اپیکال بر حسب اندازه ضایعه

حضور IgA / نوع ضایعه	مثبت	منفی	جمع
بزرگ	۲۰ (۷۱)	۸ (۲۹)	۲۸ (۱۰۰)
کوچک	۱۷ (۵۲)	۱۶ (۴۸)	۳۳ (۱۰۰)
جمع	۳۷ (۶۱)	۲۴ (۳۹)	۶۱ (۱۰۰)

میانگین نسبت IgA/IgG● در ضایعه‌های کوچک و بزرگ به ترتیب حدود ۰/۰۳۸±۰/۰۳۷ و ۰/۰۴۵±۰/۰۵۸ برآورد گردید که با انجام آزمون t، اختلاف آماری معنی‌داری میان دو گروه مورد مطالعه ملاحظه شد (P<۰/۰۲۵). در جدول (۳) رابطهٔ میان نسبت

جدول ۲- میانگین، انحراف معیار و غلظت IgA (بر حسب mg/ml) در ضایعات مزمن پری اپیکال

شاخص‌ها / نوع ضایعه	$\bar{X}$	SD	دامنه تغییرات	فاصله اطمینان	نتیجه آزمون
بزرگ (n=۲۸)	۲/۸	۲/۲	۰-۶/۷	۲-۳/۴	P<۰/۰۱
کوچک (n=۲۸)	۱/۴	۱/۶	۰-۶/۶	۰/۹۵-۲/۲۵	

جدول ۳- میانگین، انحراف معیار نسبت IgA/IgG در ضایعات پری اپیکال بر حسب اندازهٔ ضایعه

شاخص‌ها / اندازه ضایعه	$\bar{X}$	SD	دامنه تغییرات	فاصله اطمینان	نتیجه آزمون
بزرگ (n=۲۸)	۰/۰۵۸	۰/۰۴۵	۰-۰/۱۵	۰/۰۴۱-۰/۰۷۵	P<۰/۰۲۵
کوچک (n=۳۲)	۰/۰۳۷	۰/۰۳۸	۰-۰/۱	۰/۰۲۶-۰/۰۵	

● به خاطر عدم وجود IgM در تمامی نمونه‌ها، نسبت $\frac{IgA}{IgG+IgM}$ به صورت IgA/IgG درآمد.

IgA/IgG بااندازه ضایعه بررسی گردید.

بدین ترتیب، احتمالاً با پیشرفت ابعاد ضایعه، در کنار IgG بر تولید IgA نیز افزوده می‌شود و افزایش در سنتز IgA با سرعت بیشتری صورت می‌پذیرد.

در مورد رابطهٔ احتمالی بین حضور و غلظت IgA با دیگر یافته‌های بالینی شامل سابقهٔ درمان اندو، سابقهٔ آبسه، وجود درد و حضور فیستول هیچ رابطهٔ معنی‌داری از لحاظ آماری به دست نیامد. در تمامی نمونه‌ها اکثریت باIgG بوده و در هیچ کدام به IgM برخورد نگردید.

بحث

با انجام تحقیق بر روی مایع کشت ۲۸ ضایعهٔ پری اپیکال بزرگ و ۳۳ ضایعهٔ پری اپیکال کوچک، حضور IgA در ۷۱٪ ضایعه‌های بزرگ و ۵۲٪ ضایعه‌های کوچک دیده شد. غلظت IgA در نمونه‌های مربوط به ضایعه‌های بزرگ بین ۰ تا ۶/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر متغیر بود. میانگین غلظت IgA در ضایعه‌های بزرگ ۲/۲±۲/۸ و در ضایعه‌های کوچک ۱/۶±۱/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد که تفاوت آماری معنی‌داری را نشان می‌داد ($P<0/01$). هم‌چنین نسبت IgA/IgG در ضایعه‌های بزرگ از لحاظ آماری افزایش معنی‌داری را در مقایسه با ضایعه‌های کوچک نشان داد ($P<0/025$) به این ترتیب با افزایش ابعاد ضایعه، سنتز IgA افزایش می‌یابد و بر تولید IgG پیش می‌گیرد.

Stern و همکاران طی سال ۱۹۸۱ هیچ تفاوت معنی‌داری را از لحاظ انتشار و تراکم پلاسماسل‌های مولد انواع ایمونوگلوبولین‌ها بین موارد کیست و گرانولوم پری اپیکال مشاهده نکردند (۵). در تحقیق فعلی نیز میان حضور IgA در موارد ضایعه‌های بزرگ و کوچک تفاوت آماری معنی‌داری ملاحظه نشد، بلکه تفاوت در غلظت IgA وجود داشت که ارتباطی ۱۰۰٪ با میزان پلاسماسل‌ها ندارد.

Matsou و همکاران با وجود آن که تفاوت معنی‌داری را از لحاظ پلاسماسل‌های تولید کننده IgG، IgA و IgM بین کیست و گرانولوم مشاهده نکردند اما میزان پلاسماسل‌های تولید کنندهٔ IgA را در موارد کیستی اندکی بالاتر دانستند (۱۳). علیرغم تعداد بالای پلاسماسل‌ها در ضایعه‌ها، این محققین متوجه حضور میزان نسبتاً بالاتری از پلاسماسل‌های مولد IgA در ضایعه‌های بزرگ شده‌اند که با یافته‌های حاصل از این تحقیق مطابقت دارد.

Matsou و همکاران، غلظت IgG و IgA موجود در اگزودای ضایعه‌های بزرگ را به طور معنی‌داری بالاتر از ضایعه‌های کوچک به دست آوردند (۱۴) که کاملاً با یافته‌های تحقیق فعلی مطابقت دارد.

در این تحقیق، صرف نظر از وسعت ضایعهٔ پری اپیکال هیچ ارتباطی میان حضور و غلظت IgA با سایر علایم بالینی نظیر حضور فیستول، سابقهٔ درمان اندو، سابقهٔ آبسه و حضور درد ملاحظه نشد.

Stern و همکاران (۵) و Matsou و همکاران (۱۳) نیز بین حضور پلاسماسل‌ها و سابقهٔ درمان اندو به ارتباط آماری معنی‌دار برخورد نکردند. Matsou و همکاران (۱۴) تنها در مورد درد متعاقب پالپاسیون مخاط رویی ضایعه به وجود یک ارتباط معنی‌دار با غلظت IgG و IgA دست یافتند. البته در تحقیق فعلی درد متعاقب پالپاسیون مخاط بررسی نشد، از این رو نتایج حاصل از تحقیقات مزبور، هیچ تناقضی با یافته‌های حاصل از این تحقیق نداشته و نظیر یکدیگر می‌باشند.

بر اساس یافته‌های حاصل از این تحقیق، می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که در ضایعه‌های پری اپیکال بزرگ تولید IgA افزایش می‌یابد و بر تولید IgG پیشی می‌گیرد به گونه‌ای که در ضایعه‌های بزرگ به افزایش نسبت IgA/IgG برخورد می‌شود. با توجه به افزایش غلظت IgA در اکثر بیماریهای عفونی مزمن، علت این امر را می‌توان به میکروارگانیسم‌ها نسبت داد. احتمالاً در این موارد، به دلیل ایمنی زایی ضعیف و نوع آنتی‌ژنهای میکروارگانیسم‌ها، زمینه برای تولید سایتوکین‌هایی فراهم می‌شود که در تولید IgA نقش دارند (TGF-β). IgA بر خلاف IgG، قادر به فعال ساختن موثر فاگوسیتوز و سیستم کمپلمان نبوده و با توجه

به این که پلاسماسل‌های مولد IgA دیگر قادر به تولید IgG نمی‌باشند، از این رو ازغلظت موثر IgGکاسته خواهد شد و بدین ترتیب زمینه برای تشکیل کمپلکس‌های کوچک آنتی‌ژن و آنتی‌بادی فراهم می‌گردد که به سهولت پاک‌سازی نمی‌شوند و بنابراین فرصت کافی جهت رسوب در بافت مورد را به دست می‌آورند.

تشکر و قدردانی

با سپاس بسیار از زحمات جناب آقای دکتر محمد اثنی عشری که در امر تهیهٔ نمونه‌های مورد نیاز این تحقیق، نهایت مساعدت وصف ناپذیر خود را مبذول فرمودند.

با تقدیر فراوان از زحمات تمامی همکاران محترم بخش پاتولوژی دانشکده دندانپزشکی شهید بهشتی به ویژه استاد عالیقدر جناب آقای دکتر استپان الکسانیان و سرکار خانم نوروزی که با همکاری و لطف بی‌نظیرشان، امکان بررسی هیستوپاتولوژیک نمونه‌ها از نظر شرایط کشت، میسر گردید.

با سپاس فراوان از زحمات اساتید و همکاران ارجمند بخش‌های اندو و جراحی دانشکده‌های دندانپزشکی شهید بهشتی و تهران که در زمینهٔ جمع‌آوری نمونه‌ها، همکاری تحسین برانگیزی را مبذول فرمودند و با سپاس و قدردانی بسیار از تمامی بیمارانی که صادقانه و خالصانه با این تحقیق همکاری نمودند و خاطرهٔ همکاری بی‌نظیر آنان تا ابد در یاد ما خواهد بود.

References:

1. *Shafer WG. Hine MK. Levy BM. **A textbook of oral pathology.** 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1985: 479-510.*

2. *Iwu C. McFarlane TW. Meckenzie D. The microbiology of periapical granulomas. **J Oral Surg.** 1990; 69: 502-505.*

3. *Jones OJ. Lally ET. Biosynthesis of immunoglobulin isotypes in human periapical lesions. **J Endod.** 1980; 6: 672-677.*

4. *Riccio R. Scognamiglio R. Lymphocyte subpopulations in inflammatory periapical lesions. **Minerva Stomatol.** 1992; 41: 13-21.*

5. *Stern MH. Dreizen S. Makler BF. Antibody producing cells in human periapical granulomas and cysts. **J Endod.** 1981; 7: 447-452.*

۶. ستاری م. تعیین ایمونوگلوبولینهای *A*،*G* و *M* و اتوآنتی‌بادی‌ها در محیط کشت ضایعات مزمن پری اپیکال و تعیین رسوب کمپلکسهای ایمنی در ضایعات مزبور. **پایان‌نامه تخصصی.** تهران: دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۱۳۷۳: ۷۳-۶۵.

7. *Torabinejad M. Kerrering ID. Detection of immune complexes in human dental periapical lesions by anticomplement immunofluourescence technique. **J Oral Surg.** 1979; 48: 256-251.*

8. *Torabinejad M. Eby W. Naidorf IJ. Inflammatory and immunological aspects of the pathogenesis of human periapical lesions. **J Endod.** 1985; 11: 479-488.*

9. *Baumgartner JC. Falkler WA. Biosynthesis of IgG in periapical lesions explant cultures. **J Endod.** 1991; 17: 143-146.*

10. Baumgartner JC. Fakller WA. Detection of immunoglobulins from explant cultures of periapical lesions. J Endod. 1991; 17: 105-110.

11. Torres JOC. Torabinejad M. Matiz RAR. Presence of secretory IgA in human periapical lesions. J Endod. 1994; 20: 87-89.

12. Roitt I. Brostoff J. Male D. Immunology. 4th ed. London: Churchill-living stone; 1996: 24.1-24.12.

13. Matsou T. Ebisu S. Shimabukuro Y. Quantitative analysis of immunocompetent cells in human periapical lesions. J Endod. 1992; 18: 497-500.

14. Matsou T. Ebisu S. Nakanishi T. Immunoglobulins in periapical exudates of infected root canals; correlations with the clinical findings of the involved teeth. J Endod Dent Traumato. 1995; 11:95-99.