KVANTITATIVNA ANALIZA MAKROFAGA U GINGIVITISU I PARODONTOPATIJI

AUTORI

Marjanović D.¹, Anđelković Z.², Šehalić M.¹, Đorđević N.¹, Stamatović D.¹, Arsić Z.¹.

¹ Stomatološka klinika, Medicinski fakultet Priština, Kosovska Mitrovica

² Institut za histologiju i embriologiju, Medicinski fakultet Priština, Kosovska Mitrovica

KORESPONDENT

DRAGAN MARJANOVIĆ

Medicinski fakultet, Interna klinika - Kosovska Mitrovica, Srbija

✉ drmarjanovicdragan@gmail.com

SAŽETAK

Parodontalna bolest (parodontopatija) je hronična inflamatorna bolest u čiju patogenezu su uključene različite ćelije urođenog i stečenog imuniteta, među kojima i makrofagi. Makrofagi su profesionalni fagociti čija je osnovna uloga ingestija i destrukcija mikroorganizama. Pored fagocitoze, ove ćelije su angažovane u produkciji proinflammatoryh citokina i u prezentaciji antigena T-ćelijama, te se smatraju ključnim ćelijama urođenog imunskog odgovora. U našem istraživanju praćena je gustina i distribucija makrofaga u zdravoj i inflamiranoj gingivi sa ciljem da se proceni njihov značaj u patogenezi parodontopatije. Materijal su činile gingivalne biopsije 96 pacijenata svrstanih u 4 grupe: zdrava gingiva, gingivitis, početna parodontopatija i uznapredovala parodontopatija. Za identifikaciju makrofaga korišćena je imunohistohemijska tehnika bojenja zasnovana na upotrebi monoklonskog antitela anti-CD68. Prema našem istraživanju gustina makrofaga je veća u gingivitisu i parodontopatiji u odnosu na zdravu gingivu. Između gingivitisa i parodontopatije nije nađena značajna razlika u gustini makrofaga. Grupisanje makrofaga u blizini delimično liziranih kolagenih vlakana u parodontopatiji ukazuje na njihovu kolagenolitičku aktivnost. Povećanje broja makrofaga u inflamiranoj gingivi može se dovesti u vezu i sa resorpcijom kosti jer se ove ćelije mogu diferencirati u osteoklaste.

Ključne reči: makrofagi, gingiva, gingivitis, parodontopatija, CD68

UVOD

Parodontalna bolest (parodontopatija) je hronična inflamatorna bolest koja pogađa značajan deo ljudske populacije i glavni je uzrok gubitka zuba kod odraslih [1]. Umerena parodontopatija javlja se kod 13-57% odraslog stanovništva, a od uznapredovale forme bolesti pati 10-25% populacije [2]. Parodontopatija je uzrokovana patogenom mikroflorom iz biofilma dentalnog plaka [3]. Infekcija u početku zahvata gingivalni epitel i prouzrokuje gingivitis, a zatim se širi i zahvata čitav potporni aparat zuba progredirajući u parodontopatiju [4]. Inicijalna reakcija na bakterijsku infekciju je lokalna inflamatorna reakcija kojom se aktiviraju ćelije urođenog imuniteta, među kojima važnu ulogu imaju makrofagi [5]. Posle ćelija urođenog imuniteta, u patogenezi parodontopatije uključuju se ćelije i mehanizmi stečenog imuniteta. Preterano agresivan imunski odgovor ne uništava samo patogene bakterije, već dovodi i do oštećenja sopstvenog gingivalnog tkiva i do resorpcije kosti.

Makrofagi su profesionalni fagociti čija osnovna uloga je ingestija i destrukcija mikroba [6]. Oni na svojoj plazmalemi poseduju receptore, označene kao TLR (engl. Toll-like receptors), kojima prepoznaju lipopolisaharide iz ćelijskog zida periodontopatogenih bakterija, kao što su *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* itd. [7, 8]. TLR učestvuju u signalnoj transdukciji i aktivaciji makrofaga

[7]. Aktivirani makrofagi luče niz proinflammatoryh citokina koji izazvaju disbalans između osteoblasta i osteoklasta, što rezultuje resorpcijom alveolarne kosti [9]. Pored toga, makrofagi luče i enzime sa kolagenolitičkim potencijalom čime doprinose destrukciji gingivalnog tkiva [5]. Uloga makrofaga u patogenezi parodontopatije praćena je u nekoliko istraživanja, ali njihov značaj u zaštiti i destrukciji potpornog aparata zuba nije dovoljno rasvetljen.

CILJ RADA

U istraživanju je praćena distribucije i gustina makrofaga u različitim fazama parodontalne bolesti sa ciljem da se proceni značaj ove ćelijske populacije u imunskom odgovoru i pratećoj tkivnoj destrukciji.

MATERIJAL I METODE

Istraživanjem je obuhvaćeno 96 osoba starosti od 13 do 68 godina. Kod svakog pacijenta rađena je gingivalna biopsija pri ekstrakciji zuba iz ortodontskih razloga ili usled parodontopatije. Klinički stadijum bolesti procenjen je na osnovu sledećih indeksa: CPITN (Community parodontal index of treatment needs) [10], Loe-Silness gingivalni indeks [11], Mühlemenn-Sulcus Bleeding indeks [12], Silness-Loe plak indeks [13]. Dubina parodontalnog

džepa merena je sondom sa kuglicom. Prema preporuci američke akademije za periodontologiju [14], uzorci gingive razvrstani su u 4 grupe:

A. grupa I - zdrava gingiva (11 uzoraka od osoba sa zdravom gingivom bez krvarenja, otoka ili zapaljenja i sa uobičajenom dubinom gingivalnog žleba)

B. grupa II - gingivitis (18 tkivnih uzoraka od pacijenata kod kojih je zapaženo crvenilo, otok i krvarenje na marginama gingive, bez vertikalne resorpcije alveolarne kosti i bez produbljivanja gingivalnog džepa)

C. grupa III - umerena parodontopatija (36 uzoraka kod pacijenata sa vertikalnom koštanom resorpcijom do 50% i parodontalnim džepom dubine do 6 mm)

D. grupa IV - izražena ili uznapredovala parodontopatija (31 uzorak kod pacijenata sa vertikalnom koštanom resorpcijom preko 50% i parodontalnim džepom dubine iznad 6 mm).

Isečki tkiva ispirani su u fiziološkom rastvoru, fiksirani u 10% formalinu, dehidratirani u rastućim koncentracijama alkohola, prosvetljeni u ksilolu i kalupljeni u parafinu. Aktivnost endogenih peptidaza suzbijena je inkubacijom u 3% vodonik-peroksidu u trajanju od 5 minuta, a demaskiranje antigena izvršeno je petnaestominutnim kuvanjem u citratnom puferu pH 6,0. Tkivni preseci su zatim inkubirani 1 čas sa monoklonskim antitelom anti-CD68 koje služi kao specifični marker za identifikaciju makrofaga. Sekundarno bojenje vršeno je kitom LSAB2 (Dako, Denmark) na sobnoj temperaturi u trajanju od 30 minuta. Kao hromogen korišten je 3,3'-diaminobenzidin (DAB), a za kontrastno bojenje korišten je Mayerov hematoksilin [15]. CD68-pozitivne (CD68+) ćelije identifikovane su na osnovu braon prebojenosti ćelijske membrane i citoplazme. Kvantitativna evaluacija CD68+ ćelija vršeno je pomoću prethodno kalibrisane mrežice površine 0,0145 mm² na uvećanju mikroskopa od 400 puta. Mrežica je prevlaćena preko čitavog tkivnog uzorka od čije površine je zavisio broj merenja. Za svaki uzorak određivan je prosečan broj ćelija po površini mrežice, a zatim je ta vrednost deljena brojem 0,0145 da bi se dobio prosečan broj ćelija po mm² površine gingivalnog tkiva. Statistička analiza sprovedena je uz pomoć računara korišćenjem MS Office Excel programa. Gustina makrofaga po jedinici površine (mm²) izražavana je srednjom vrednošću ± standardna devijacija. Testiranje statističke značajnosti razlike srednjih vrednosti broja makrofaga po mm² gingivalnog tkiva između istraživanih grupa vršeno je Studentovim t-testom.

REZULTATI

Za detekciju makrofaga korišćena su anti-68 monoklonska antitela. U zdravoj gingivi zapaljenjske ćelije su inače malobrojne, a makrofagi su rasejani po čitavom vezivu i po pravilu se javljaju kao pojedinačne ćelije. CD68+ ćelije se nešto češće zatiču u gingivalnim papilama i perivaskularnim prostorima (slika 1), a naročito u infiltratima uz pripojni epitel, gde se mogu naći i u manjim grupicama od po dve do pet ćelija. Takođe, makrofagi se neretko viđaju u neposrednom kontaktu sa epitelnom bazalnom laminom ili među snopovima kolagenih vlakana.

Slika 1. Dva makrofaga (strelice) u blizini krvnih sudova u zdravoj gingivi. CD68, 400x

U gingivitisu je broj makrofaga primetno veći nego u zdravoj gingivi, proporcionalno povećanju brojnosti zapaljenjskih ćelija. Njihova koncentracija je najveća u samim zapaljenjskim infiltratima, ali im je broj povećan i u vezivnim papilama i subepitelnom pojasu (slika 2). Nešto veći broj makrofaga registruje se i u fibroznom vezivu gingive, gde su kolageni snopovi dobro očuvani. U oralnom epitelu gingive makrofaga praktično nema, dok se u pripojnom i sulkusnom epitelu mogu uočiti.

Slika 2. U papilama i subepitelnom vezivu gingive u gingivitisu zapaža se umeren broj makrofaga (braon boja). CD68, 200x

U istraživanim uzorcima početne i uznapredovale parodontopatije distribucija i brojnost makrofaga poka-

zuju izvesne varijacije, mada u osnovi ispoljavaju slična svojstva kao u gingivitisu. U većini žarišta makrofagi su pojedinačni, ravnomerno raspoređeni po čitavom žarištu i prisutni su u niskom procentu. Samo u redim slučajevima oni čine značajan procenat među zapaljenjskim ćelijama, ali ni tada nisu dominantna ćelijska populacija (slika 3). Pojedininim uzoracima primećena je neobično visoka koncentracija makrofaga unutar ili okolo ostataka kolagena prisutnog u središtu zapaljenjskih infiltrata (slika 4). I van zapaljenjskih infiltrata makrofagi se pokatkad mogu naći u većem broju okolo pojedinih kolagenih snopova. Gustina i distribucija CD68+ ćelija u vezivnim papilama, kolagenim snopovima i epitelu gingive kod parodontopatije je ista kao u gingivitisu, izuzev što su u tri uzorka zapaženi makrofagi i u oralnom epitelu (slika 5).

Slika 3. Zapaljenjsko žarište u centru slike sadrži velik broj makrofaga koji formiraju manje grupice. Uznappedovala parodontopatija, CD68, 200x

Slika 4. Visoka koncentracija makrofaga u središtu zapaljenjskog infiltrata okolo i unutar kolagenih snopova. Početna parodontopatija, CD68, 400x

Slika 5. U bazalnom i spinoznom sloju oralnog epitela gingive u uznapredovaloj parodontopatiji zapažaju se pojedinačni makrofagi. CD68, 200

Najveći srednji broj makrofaga nađen je u grupi sa početnom parodontopatijom ($164,75 \pm 78,62$), a najniži u zdravoj gingivi ($51,43 \pm 19,42$) (tabela 1). U odnosu na zdravu gingivu broj makrofaga viši je u grupi sa uznapredovalom parodontopatijom ($p < 0,05$), gingivitisom ($p < 0,01$), a posebno sa početnom parodontopatijom ($p < 0,001$). Između gingivitisa i parodontopatije nije nađena statistička razlika u broju makrofaga, kao ni između dve forme parodontopatije. Procentualno učešće makrofaga u ukupnom broju ćelija najveće je u grupi sa gingivitisom, ali bez statističke značajnosti u odnosu na ostale grupe (tabela 2).

DISKUSIJA

Uloga makrofaga u patogenezi parodontopatije je neosporna. Ove ćelije stvaraju niz citokina i prezentuju antigene T-ćelijama [16]. Aktivirani makrofagi su ključne ćelije urođenog imuniteta. Oni proizvode proinflammatory citokine koji pojačavaju stepen fagocitoze i u velikom broju slučajeva vode uspešnoj eliminaciji patogena [17]. Ipak, potpuna eliminacija patogena često zahteva učešće antigen-specifičnih T- i B- ćelija. Mehanizmi urođenog i stečenog imunskog odgovora su stoga okarakterisani kao međuzavisni [17]. Ćelije urođenog imunskog odgovora utiču na diferencijaciju T- ćelija na dva načina - menjanjem spektra citokina u tkivima ili uticajem na diferenciraju antigen-specifičnih T-ćelija u drenirajućim limfnim čvorovima [18].

Interesantno da je da postoji svega nekoliko istraživanja u kojima je praćen značaj makrofaga u parodontopatiji. Zadeh i sar. [19] su pokazali da A. actinomycetemcomitans i P. Gingivalis aktiviraju monocite i makrofage podržujući ih na sekreciju proinflammatory medijatora zapaljenja, dok su Chapple i sar. [20] ustanovili da u uznapredovalom periodontitisu ne postoji pove-

Tabela 1. Broj makrofaga po mm² veziva gingive u ispitivanim grupama

Grupa	N	X	SD	95%	CI	Min	Max	CV
Zdrava gingiva	11	51,43	19,42	33,47	69,38	30	87	37,75
Gingivitis	18	124,00	62,90	57,99	190,01	73	246	50,72
Početna parodontopatija	36	164,75	78,62	114,80	214,70	41	268	47,72
Uznappedovala parodontopatija	31	143,57	87,21	62,91	224,23	49	281	60,75

a - vs zdrava gingiva

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

Tabela 2. Procentualno učešće makrofaga u ukupnom broju ćelija u ispitivanim grupama (%)

Grupa	N	X	SD	95%	CI	Min	Max	CV
Zdrava gingiva	11	6,32	1,48	4,95	7,69	4,34	8,54	23,46
Gingivitis	18	8,71	3,73	4,79	12,62	5,55	13,46	42,87
Početna parodontopatija	36	7,59	3,55	5,33	9,85	1,76	13,53	46,80
Uznapredovala parodontopatija	31	5,89	1,67	4,34	7,44	4,00	8,74	28,44

ćanje broja i aktivnosti makrofaga u odnosu na tkivo sa minimalnim zapaljenjem. I u drugim istraživanjima negira se stimulativni efekat periodontalnih patogena na ćelije monocitno-makrofagne linije. Pokazano je da P. gingivalis utiče na migraciju i aktivaciju makrofaga inhibirajući produkciju monocitnog hemoatraktant proteina-1 (MCP-1), jednog od glavnih hemokina monocitno-makrofagne loze [21]. Ovi rezultati ukazuju da makrofagi mogu imati protektivne efekte u stabilnim lezijama, ali da ti efekti iščezavaju u uznapredovalim destruktivnim lezijama [18]. Međutim, rezultati Younesa i sar. [22] svedoče o permanentnom povećanju broja makrofaga počev od gingivitisa, preko umerene parodontopatije do uznapredovale parodontopatije. Slične rezultate ranije su prezentovali Taubman i sar. [23] i Seymour [24]. Lappin i sar. [25] izvestili su o signifikantnoj promeni odnosa makrofagi/T-ćelije u korist makrofaga u adultnom periodontitisu, što bi značilo da su ove ćelije itekako uključene u klinički tok periodontalne bolesti. Zappa i sar. [26] ustanovili su da je broj makrofaga veći u aktivnim periodontalnim lezijama nego u inaktivnim, dok su Grenier i Grignon [27] izneli pretpostavku da ove ćelije imaju presudan uticaj na progresiju bolesti iz akutne u hroničnu fazu. Produkcijom proinflamatornih citokina, prvenstveno interleukina-18 i faktora nekroze tumora, makrofagi stimulišu akciju celularnog imuniteta pospešujući inflamatornu kaskadu, čime indirektno mogu doprineti tkivnoj destrukciji [27]. Pored toga, pod uticajem faktora nekroze tumora- α (TNF- α) makrofagi se mogu diferenciraju u osteoklaste i na taj način doprineti koštanoj resorpciji [28].

U našem istraživanju ustanovljeno je da vezivo zdrave gingive sadrži prosečno $51,43 \pm 19,42$ makrofaga po milimetru kvadratnom površine, dok je u svim ostalim istraživanim grupama gustina ovih ćelija značajno veća, pri čemu je najveća koncentracija makrofaga zabeležena u početnoj parodontopatiji. Interesantno da između gingivitisa, početne i uznapredovale parodontopatije nije registrovana značajna razlika u koncentraciji makrofaga, a u procentualnoj zastupljenosti ovih ćelija nisu nađene značajne razlike među ispitivanim grupama. Povećan broj makrofaga u gingivitisu i parodontopatiji može se dovesti u vezu sa povećanom destrukcijom ekstracelularnog matriksa i potrebom da se njegovi ostaci uklone. Međutim, da bi se procenio značaj makrofaga u zaštiti i destrukciji gingivalnog tkiva, pored broja neophodno je utvrditi i aktivnost ovih ćelija. Poznato je da makrofagi proizvode brojne citokine [29], proteinaze [30] i slobodne radikale kiseonika [31] koji mogu doprineti degradaciji vezivnog tkiva [23]. U tom kontekstu naročito su važne matriksne metaloproteinaze, kao potentni medijatori tkivne destrukcije [32], i proinflamatorni ci-

tokini IL-18, TNF- α i IL-17 [33, 34], koji su u vezi sa permanentnom hiperekspresijom matriksnih metaloproteinaza [35]. Beklen i sar. [29] ustanovili su da je u periodontitisu povećana imunoreaktivnost na IL-18, TNF- α i IL-17 u odnosu na zdravu gingivu, kao i da su pomenuti citokini lokalizovani prevenstveno u makrofagima, fibroblastima, epitelnim i endotelnim ćelijama. Ujedno, isti autori su demonstrirali da su matriksne proteinaze MMP-1 (kolagenaza) i MMP-3 (stromelizin) dominantno lokalizovane u gingivalnim makrofagima i fibroblastima, na osnovu čega se ove ćelije mogu smatrati i najodgovornijim za tkivnu destrukciju. Ovu pretpostavku potvrđuju i zapažanja Younesa i sar. [22] da broj CD68+ ćelija pozitivno koreliše sa kliničkom težinom parodontopatije i stepenom kolagenolize.

ZAKLJUČAK

U našem istraživanju u gingivitisu i parodontopatiji je zabeležena povećana gustina makrofaga u gingivalnom vezivu u odnosu na zdravu gingivu, ali je nepromenjena njihova procentualna zastupljenost u odnosu na sveukupan broj ćelija u vezivu. Između gingivitisa i parodontopatije nije nađena značajna razlika u gustini makrofaga. U zdravoj gingivi makrofagi su prisutni kao pojedinačne ćelije, a u parodontopatiji se mogu naći u manjim grupama u blizini kolagenih vlakana podvrgnutih kolagenolizi, što ukazuje na njihov kolagenolitički potencijal. Povećanje broja makrofaga u inflamiranoj gingivi može se dovesti u vezu i sa resorpcijom kosti zato što se ove ćelije mogu diferencirati u osteoklaste.

LITERATURA

1. Pihlstrom BL, Tabak L. The National Institute of Dental and Craniofacial Research: research for the practicing dentist. *J American Dental Association*. 2005;136(6):728-37.
2. Rylev M, Kilian M. Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide. *J Clin Periodontol*. 2008; 35:346-61.
3. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet*. 2005;366:1809-20.
4. Listgarten MA. Pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1986;13(5):418-430.
5. Kayal RA. The Role of Osteoimmunology in Periodontal Disease. *Biomed Res Int* 2013. 2013:e12.
6. Eddie WK, Sokolovska A, Charriere GM, Boyer L, Dejardin S, Cappillino MP et al. Phagocytosis and Phagosome Acidification Are Required for Pathogen Processing and MyD88-Dependent Responses to *Staphylococcus aureus*. *J Immunol*. 2010; 84:7071-7081.
7. Yoshimura A, Kaneko T, Kato Y, Golenbock DT, Hara Y. Lipopolysaccharides from Periodontopathic Bacteria *Porphyromonas gingivalis* and *Capnocytophaga ochracea* Are Antagonists for Human Toll-Like Receptor 4. *Infect Immun*. 2002;70(1):218-25.
8. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 2006;124:783-801.
9. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol*. 2003;74:391-401.
10. Ainamo J, Barmes D, Beagrie G, Cutress T, Martin GJ, Sardo-Infirri J et al. Development of the World Health Organization (WHO) Community Periodontal Index of Treatment Needs (CPTN). *Int Dent J*. 1982;32:281-6.
11. Loe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. prevalence and severity. *Acta Odontol Scand*. 1963;21:533-51.
12. Mühlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding - a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta*. 1971;15(2):107-13.
13. Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand*. 1964;22:121-35.
14. Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 2004;34:921-6.
15. Sheibani K, Tubbs RR. Enzyme immunohistochemistry: Technical aspects. *Semin Diagn Pathol*. 1984;1:235-50.
16. Dennison DK, Van Dyke TE. The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease. *Periodontol* 2000. 1997;14:54-78.
17. Trinchieri G. Cytokines acting on or secreted by macrophages during intracellular infection (IL-10, IL-12, IFN- γ). *Curr Opin Immunol*. 1997; 9(1):17-23.
18. Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002;13:17-34.
19. Zadeh HH, Nichols FC, Miyasaki KT. The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis. *Periodontol* 2000. 1999;20:239-88.
20. Chapple CC, Srivastava M, Hunter N. Failure of macrophage activation in destructive periodontal disease. *J Pathol*. 1998;186:281-6.
21. Gemmell E, Grieco DA, Seymour GJ. Chemokine expression in *Porphyromonas gingivalis*-specific T-cell lines. *Oral Microbiol Immunol*. 2000;15:166-71.
22. Younes R, Ghorra C, Khalife S, Igondjo-Tchen-Changotade S, Yousfi M et al. Pertinent cell population to characterize periodontal disease. *Tissue Cell*. 2009;41:141-50.
23. Taubman MA, Stoufi ED, Ebersole JL, Smith DJ. Phenotypic studies of cells from periodontal disease tissues. *J Periodontal Res*. 1982;19:587-90.
24. Seymour GJ. Importance of the host response in the periodontium. *J Clin Periodontol*. 1991;18:412-6.
25. Lappin DF, Macleod C, Kerr A, Mitchell T, Kinane DF. Anti-inflammatory cytokine IL-10 and T cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue. *Clin Exp Immunol*. 2001; 123:294-300.
26. Zappa U, Reinking-Zappa M, Graf H, Espeland M. Cell populations and episodic periodontal attachment loss in humans. *J Clin Periodontol*. 1991;18(7):508-15.
27. Grenier D, Grignon L. Response of human macrophage-like cells to stimulation by *Fusobacterium nucleatum* ssp. *nucleatum* lipopolysaccharide. *Oral Microbiol Immunol*. 2006;21(3):190-6.
28. Lam J, Takeshita S, Barker JE, Kanagawa O, Ross FP, Teitelbaum SL. TNF- α induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J Clin Invest*. 2000;106(12):1481-8.
29. Beklen A, Ainola M, Hukkanen M, Gurgan C, Sorsa T et al. MMPs, IL-1, and TNF are regulated by IL-17 in periodontitis. *J Dent Res*. 2007;86(4):347-51.
30. Wallace AM, Sandford AJ, English JC, Burkett KM, Li H et al. Matrix metalloproteinase expression by human alveolar macrophages in relation to emphysema. *COPD*. 2008;5:13-23.

31. Persson YA, Blomgran-Julinder R, Rahman S, Zheng L, Stendahl O. Mycobacterium tuberculosis-induced apoptotic neutrophils trigger a proinflammatory response in macrophages through release of heat shock protein 72, acting in synergy with the bacteria. *Microbes Infect.* 2008;10(3):233-40.
32. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B et al. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1993;4:197-250.
33. Yao Z, Painter SL, Fanslow WC, Ulrich D, Macduff BM et al. Human IL-17: a novel cytokine derived from T cells. *J Immunol.* 1995;155:5483-6.
34. Jovanovic DV, Di Battista JA, Martel-Pelletier J, Jolicoeur FC, He Y et al. IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-beta and TNF-alpha, by human macrophages. *J Immunol.* 1998;160:3513-21.
35. Liacini A, Sylvester J, Li WQ, Zafarullah M. Mithramycin downregulates proinflammatory cytokine-induced matrix metalloproteinase gene expression in articular chondrocytes. *Arthritis Res Ther.* 2005;7:R777-83.

ENGLISH

QUANTITATIVE ANALYSIS OF MACROPHAGES IN GINGIVITIS AND PERIODONTAL DISEASE

Marjanović D.¹, Anđelković Z.², Šehalić M.¹, Đorđević N.¹, Stamatović D.¹, Arsić Z.¹.

¹ Clinic for stomatology, Medical faculty Priština, Kosovska Mitrovica

² Institut for histology and embryology, Medical faculty Priština, Kosovska Mitrovica

SUMMARY

Periodontal disease is a chronic inflammatory disease, the pathogenesis of which involves different innate immune system as well as adaptive immune system cells, including macrophages. Macrophages are professional phagocytes whose primary role is ingestion and destruction of microorganisms. Apart from phagocytosis, these cells are engaged in production of proinflammatory cytokines and antigen presentation to T cells, and therefore are considered to be the key cells of the innate immune response. Our study focused on distribution and density of macrophages in healthy and inflamed gingiva with the purpose of evaluating their relevance to pathogenesis of periodontal disease. The material used for this purpose were gingival biopsies taken from 96 patients assorted in 4 groups: the healthy gingiva, gingivitis, moderate periodontal disease and severe periodontal disease. The immunohistochemical staining method based on the use of monoclonal antibodies anti-CD68 was used for identification of macrophages. Our study showed that the density of macrophages is higher in gingivitis and periodontal disease compared to healthy gingiva. There were no significant differences found regarding the density of macrophages in gingivitis and periodontal disease. Grouping of macrophage populations close to partially lysed collagen fibers in periodontal disease indicates their collagenic activity. The increase in the number of macrophages in inflamed gingival tissue could be linked to bone resorption due to the fact that these cells are capable of differentiating into osteoclasts.

Keywords: macrophages, gingiva, gingivitis, periodontal disease, CD68