

TOMASZ KONOPKA, MAREK ZIĘTEK

Współczesne poglądy na rolę zaburzeń czynnościowych granulocytów obojętnochłonnych w etiopatogenezie zapaleń przyzębia

Modern aspects of neutrophils dysfunctions in the pathogenesis of periodontitis

Katedra i Zakład Periodontologii AM we Wrocławiu

Streszczenie

Powstawanie zapaleń przyzębia determinuje całokształt oddziaływań między bakteriami w kieszonkach przyzębnych a wrodzonymi i nabytymi czynnikami gospodarza. W pracy przeanalizowano znaczenie zaburzeń czynnościowych granulocytów obojętnochłonnych jako czynnika ryzyka powstawania zapaleń przyzębia. Przedstawiono zaburzenia adherencji, chemotaksji, fagocytozy, mechanizmów zabijania drobnoustrojów i biosyntezy cytokin prozapalnych przez neutrofile oraz wyniki badań własnych nad adherencją, chemotaksją, fagocytozą i wybuchem oddechowym tych komórek u pacjentów ze zlokalizowanym i uogólnionym zapaleniem przyzębia. Występują kontrowersje co do podstaw molekularnych tych zaburzeń, czy występują one na poziomie receptorowym, pozareceptorowym (endogenne defekty komórkowe), czy też są następstwem oddziaływania czynników środowiskowych (defekty nabywane). Uważamy, że większość tych zaburzeń jest skutkiem wrodzonej nadreaktywności odpowiedzi immunologicznej gospodarza na czynniki patogenne. Podwyższone wydzielanie cytokin prozapalnych jest powiązane głównie z układem genów cytokinowych (**Dent. Med. Probl. 2002, 39, 1, 117–126**).

Słowa kluczowe: zapalenie przyzębia/etiologia, granulocyty obojętnochłonne, receptory, cytokiny prozapalne.

Abstract

The complex interplay between the bacterial challenge in the periodontal pocket and innate and acquired host factors determines the pathogenesis of periodontitis. In this review, we analyse the role of neutrophil dysfunction as a risk factor for the onset of periodontitis. Disorders of neutrophil adherence, chemotaxis, phagocytosis, microbial killing and biosynthesis of pro-inflammatory cytokines have been shown. We present our own investigations on neutrophil adherence, chemotaxis, phagocytosis and respiratory burst in patients with localized and generalized aggressive periodontitis. Controversy exists on the molecular nature of these defects, whether they occur at the receptor level, in postreceptor pathways (intrinsic cellular defects) or as a result of environmental factors (acquired abnormalities). We think that majority of these dysfunctions are the consequence of an congenital hyperactive immune response during the host-pathogen interaction. The most important factor for elevated pro-inflammatory cytokines synthesis is association with a composite of cytokine genes (**Dent. Med. Probl. 2002, 39, 1, 117–126**).

Key words: periodontitis/etiology, neutrophils, receptors, pro-inflammatory cytokines.

Granulocyty obojętnochłonne jako komórki fagocytujące spełniają kluczową rolę w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej oraz w odporności przeciwzakaźnej. W miejscu zapalenia tworzą pierwszą linię obrony, niszcząc głównie bakterie, bezpośrednio lub w wyniku współdziałania z przeciwciałami. Destrukcja drobnoustrojów może zachodzić w wyniku działania dwóch systemów

zabijania wewnątrzkomórkowego: zależnego od tlenu (powstanie podczas wybuchu oddechowego reaktywnych pochodnych tlenu, halogenków i tlenu azotu o działaniu bakteriobójczym), niezależnego od tlenu (uwalnianie z ziarnistości lizosomalnych proteaz, np.: elastazy, katepsyny G, proteinazy 3 oraz białek, np.: mieloperoksydazy, lizozymu, defensyny o właściwościach antybiotyko-

podobnych, laktoferyny, białka BPI nasilającego przepuszczalność ścian bakterii, azurocydyny) [1, 2]. W ostatnim okresie udowodniono również, że komórki te mogą spełniać funkcje indukcyjne i regulacyjne w swoistej odpowiedzi immunologicznej przez wydzielanie cytokin (IL-1, IL-1Ra, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α), czynników wzrostu (GM-CSF, G-CSF, TGF) oraz wzrost ekspresji antygenów MHC klasy I i II [2, 3]. Zestawienie powierzchniowych receptorów granulocytarnych wraz z podaniem ich ligandów i funkcji w jakich uczestniczą prezentuje tabela 1.

Według współczesnych poglądów zapalenie przyzębia jest wynikiem interakcji między bakteriami w kieszonkach a czynnikami gospodarza i mechanizmami obronnymi na poziomie komórkowym, molekularnym i genowym. Biofilm bakteryjny jest niezbędny, ale niewystarczający dla

powstania tej patologii. Analiza wieloczynnikowa wykazała, że komponent bakteryjny zapalenia przyzębia jest odpowiedzialny za około 20% zmienności ekspresji choroby [4]. Powstanie *periodontitis*, jak również jego przebieg w znaczącym stopniu jest determinowany przez wrodzone i nabyte cechy odpowiedzi immunologiczno-zapalnej gospodarza. Istotny wpływ na podatność osobniczą mają również czynniki środowiskowe. Zapalenia przyzębia, podobnie jak wiele innych chorób ogólnospołecznych, mają więc etiologię wieloczynnikową. Dynamika procesu chorobowego jest jednak w znaczącym stopniu zdeterminowana przez białkowe struktury regulacyjne, które bezpośrednio odpowiadają za interakcje między komórkami bakterii i gospodarza [4–6].

Pierwsza obserwacja o związku między zaburzeniami neutrofilii a destrukcją przyzębia pocho-

Tabela 1. Powierzchniowe receptory neutrofilii

Table 1. Surface receptors of neutrophils

Marker CD	Nazwa synonim.	Ligandy	Udział w funkcji
CD11a/CD18	LFA-1	ICAM-1,2,3	adhezja
CD11b/CD18	CR3, Mac-1	C3b, ICAM-1, zymosan, fibrynogen	adhezja, chemotaksja, fagocytoza ADCC
CD11c/CD18	CR4, p150,95	C3b, fibrynogen	adhezja, chemotaksja, fagocytoza
CD15		selektyna E, P	adhezja
CD16b	Fc γ RIIIB	Fc IgG	immunofagocytoza, wiązanie lektyn ADCC, synteza cytokin zapalnych
CD32	Fc γ RII	Fc IgG	immunofagocytoza, ADCC, synteza cytokin zapalnych
CD35	CR1	C3b, C4b	chemotaksja, fagocytoza
CD44	pgp-1	hialuronian	wiązanie składników macierzy pozakomórkowej
CD46	MCP, gp45-70	C3b, C4b	chemotaksja, fagocytoza
CD49b	VLA-2	kolageny, laminina	wiązanie składników macierzy pozakomórkowej
CD49d	VLA-4	fibronektyna, VCAM	wiązanie składników macierzy pozakomórkowej
CD54	ICAM-1	LFA-1, CR3	adhezja
CD62	selektyna L	GlyCAM-1, CD34	adhezja
CD88	C5aR	C5a	chemotaksja, fagocytoza
CDw116		GM-CSF	fagocytoza, ADCC, hamowanie migracji, uzbrajanie granulocytów
CD120	TNF- α R, p-55,75	TNF- α	uzbrajanie granulocytów, fagocytoza
CD121a	IL-1R	IL-1, IL-1Ra	chemotaksja, fagocytoza, prozapalnie
CDw128	IL-8R	IL-8	chemotaksja, degranulacja
CD114	receptor G-CSF	G-CSF	wybuch tlenowy
	receptor fMLP	fMLP	chemotaksja
	receptor LTB ₄	LTB ₄	chemotaksja
	receptor PAF	PAF, zymosan	adhezja, degranulacja
	receptor CRP	białko C-reaktywne	fagocytoza, hamowanie migracji

GM-CSF – czynnik stymulujący kolonie granulocytarno-makrofagowe (granulocyte macrophage colony-stimulating factor), G-CSF – czynnik stymulujący kolonie granulocyty (granulocyte colony-stimulating factor), ADCC – cytotosycyzność zależna od przeciwciał (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity).

dziła z 1902 r. [cyt. wg 5]. Później wielokrotnie opisywano występowanie zapaleń przyzębia u pacjentów z układowymi zaburzeniami czynnościowymi granulocytów obojętnochłonnych. Dotyczyło to zarówno genetycznie uwarunkowanych zespołów chorobowych (zespół leniwych leukocy-

tów, zespół Chediaka-Higashiego, niedobór mielo-peroksydazy, przewlekła choroba ziarniniakowa, zespół Joba, zespół Downa), jak i nieprawidłowych funkcji tych komórek w chorobach nabytych (choroba Crohna, cukrzyca typu II) [5, 6]. Ćwierć wieku temu Cianciola et al. stwierdzili obniżoną

Tabela 2. Chronologiczne zestawienie badań nad zaburzeniami funkcji granulocytów obojętnochłonnych u pacjentów z zapaleniami przyzębia

Table 2. Chronological overview of studies on neutrophil defects in periodontitis

Rok	Autorzy	Liczba pacjentów i rozpoznanie	Metodyka badań	Wyniki
1977	Cianciola et al. [7]	9 LAP	chemotaksja do <i>E. coli</i> i C fagocytoza ops. <i>S. aureus</i>	obniżona przy $p < 0,005$ obniżona u 8 $p < 0,05$
1979	Lavine et al.	14 LAP, 19 GAP	chemotaksja do ops. <i>E. coli</i> i C test NBT	obniżona 86% z LAP 48%GAP norma u 87% z LAP
1983	Suzuki et al.	29 LAP, 24 GAP	chemotaksja do fMLP fagocytoza <i>B. cereus</i>	obniżona 79% z LAP 58%GAP obniżona 62% z LAP 29%GAP
1986	Genco et al. [17]	zestawienie 197 LAP	chemotaksja (różne chemoatraktanty)	obniżona u 70% LAP występowanie rodzinne
1987	Kalmar et al. [35]	6 LAP	fagocytoza i zabijanie <i>A. a.</i>	defekt zabijania <i>A. a.</i>
1987	Waldrop et al.	3 przedpokwitaniowe zapalenie przyzębia	adherencja spektrofotometrycznie	obniżona u wszystkich
1987	Zafiroopoulos et al. [27]	13 GAP	CL stymulowana ops. zymosanem	obniżona CL $p < 0,001$
1988	Asman [28]	12 LAP	CL stymulowana ops. <i>S. aureus</i> i fMLP	podwyższone CL stymulowana ops. bakteriami $p < 0,002$
1990	Van Dyke et al. [18]	17 LAP	chemotaksja do fMLP, cytometria przepływowa, receptory dla fMLP, CR1 i GP110	obniżona u 70% LAP osłabienie ekspresji receptorów dla fMLP, GP110
1990	Ziętek [10]	54 LAP i z pomłodzieńczym zapaleniem przyzębia	chemotaksja do ops. zymosanu, inuliny i <i>S.aureus</i> , fagocytoza izotop. i lateksu, NBT	obniżenie chemotaksji do 3 chemoatraktantów, obniżenie fagocytozy, obniżenie NBT
1992	Boughman et al. [20]	39 rodzin z LAP i GAP	chemotaksja do fMLP	u osób z obniżoną chemotaksją 71% z zapaleniem przyzębia
1993	Kimura et al. [30]	15 LAP, 13 GAP	cytometria przepływowa oksydacja DCFH po stymulacji PMA	poszczególni pacjenci z podwyższonym wybuchem oddechowym
1993	Konopka [11]	2 LAP, 21 GAP	CL stymulowana fMLP fagocytoza lateksu	obniżenie GAP $p < 0,03$ obniżenie w prog. $p < 0,05$
1994	Katsuragi et al. [12]	2 LAP, 2 z przedpokwitaniowym zapaleniem przyzębia	adherencja, PCR	ustalenie molekularnego tła LAD
1994	Hart et al.	2 LAP	PCR dla mRNA kinazy diacylglicerolowej, chemotaksja fMLP	genetyczne upośledzenie przekazywania sygnału
1996	Agarwal et al. [24]	23 LAP	chemotaksja dla fMLP i C immunofluorescencja, PCR	surowicze IL-1 β , TNF- α modulują funkcje neutrofilii
1996	Wilson i Kalmar [26]	brak danych; surowice LAP	cytometria przepływowa do oceny fagocytozy i zabijania, PCR	allotyp R131 CD32 odpowiada za wadliwą fagocytozę i zabijanie <i>A. a.</i> w LAP
1997	Galbraith et al. [44]	40 CP	hodowla neutrofilii, ELISA, PCR	produkcja IL-1 β i TNF- α wpływ genotypu IL-1

LAP – zlokalizowane agresywne zapalenie przyzębia (localized aggressive periodontitis), GAP – uogólnione agresywne zapalenie przyzębia (generalized aggressive periodontitis), CP – przewlekłe zapalenie przyzębia (chronic periodontitis).

chemotaksję i fagocytozę neutrofili izolowanych z krwi obwodowej 9 pacjentów z młodzieńczym zapaleniem przyzębia [7]. Obserwacja ta zapoczątkowała badania nad funkcjami tych komórek w krwi i płynie dziąsłowym u ogólnie zdrowych osób z periodontopatiami. Chronologiczne zestawienie badań nad zaburzeniami funkcji granulocytów obojętnochłonnych u pacjentów z zapaleniami przyzębia przedstawiono w tabeli 2. I chociaż panuje zgoda, że reaktywność tych komórek jest tylko jednym z elementów odpowiedzi przeciwbakteryjnej w zapaleniach przyzębia, to ciągle uważa się zaburzenia funkcji neutrofili za czynnik ryzyka powstania i przebiegu najcięższych postaci zapaleń przyzębia [5, 6].

Celem pracy było przedstawienie współczesnych poglądów na temat roli tych komórek w etiopatogenezie periodontopatii. W dokonanym przeglądzie, obok wyników badań innych autorów, uwzględniono przede wszystkim obserwacje własne, ponieważ ocena czynności granulocytów obojętnochłonnych u pacjentów z agresywnymi formami zapaleń przyzębia jest prowadzona w naszym ośrodku od 1988 r. [8].

Nieprawidłowości adhezji granulocytów do śródbłónka naczyniowego

Proces adhezji neutrofili do śródbłónka warunkują interakcje między receptorami na tych komórkach. Tak zwane związanie (tethering) jest możliwe przez oddziaływanie receptora CD15 z endotelialną selektyną E oraz leukocyтарnej selektyny L z odpowiednimi glikoproteinami na śródbłónku [1]. W dalszym etapie adhezji, tzw. umocowanie (latching) powstaje w wyniku wiązania receptorów integrynowych leukocytów LFA-1 i CR3 z ligandami ICAM-1 i ICAM-2 śródbłónka. Połączenia te mają charakter przemijający, dzięki czemu może rozpocząć się diapedeza, czyli migracja komórki poza ścianę naczynia. Ekspresja receptorów na śródbłónku, czyli tzw. adresyn jest regulowana przez cytokiny prozapalne, np. IL-1 β i TNF- α [1, 2]. Badania Agarwal et al. [9] wskazały, że również ekspresja receptorów granulocytarnych biorących udział w adhezji jest modulowana przez te cytokiny z łożyska naczyniowego. W badaniach własnych określano adhezję neutrofili, wykorzystując ich zdolność wiązania się z powierzchniami stałymi, w naszym przypadku ze szkłem [10, 11]. Nie wykazano, aby u osób ogólnie zdrowych z różnymi rodzajami zapaleń przyzębia adhezja granulocytów różniła się od obserwowanej w grupie kontrolnej. W klasyfikacji

zapaleń przyzębia AAP z 1989 r. opisywano postać uogólnionego przedpokwitaniowego zapalenia przyzębia towarzyszącego układowym, nawracającym zakażeniom bakteryjnym u dzieci. Okazało się, że były to przypadki dziedziczącego się w sposób autosomalny recesywny zespołu LAD (leukocyte adhesion deficiency). Ocena Katsuragi et al. [12] wykorzystująca technikę PCR dowiodła, że podstawą molekularną jest mutacja genu na chromosomie 21 dla wspólnej podjednostki α , określanej jako CD18 receptorów integrynowych LFA-1, CR3 i CR4 na granulocytach. Prawdopodobne miejsce mutacji znajduje się między 965 a 1450 nukleotydem mRNA CD18 [12]. Prowadzi to do takich zmian konformacyjnych receptora CD11/CD18, że nie jest możliwe umocowanie (latching) leukocytu do śródbłónka i opuszczenie łożyska naczyniowego. Obraz fenotypowy zespołu, w tym zaawansowanie przebiegu zapalenia przyzębia, zależy bezpośrednio od stopnia niedoboru ekspresji receptorów glikoproteinowych [6]. W agresywnych i przewlekłych zapaleniach przyzębia u pacjentów ogólnie zdrowych nie występują zaburzenia w ekspresji receptorów LFA-1 i CR3 na granulocytach obojętnochłonnych w krwi obwodowej [13]. Dlatego też w pełni zasadne jest nieuwzględnienie w nowej klasyfikacji chorób przyzębia uogólnionego przedpokwitaniowego zapalenia przyzębia, tylko wliczenie tych przypadków do grupy zapaleń przyzębia w przebiegu chorób układowych [14].

Nieprawidłowości chemotaksji granulocytów obojętnochłonnych

Chemotaksja jest ukierunkowaną migracją komórki w kierunku wzrastającego gradientu stężenia cząsteczek chemotaktycznych. Dla neutrofili czynnikami tymi są: składniki dopełniacza C5a i C3a, fMLP, leukotrien B₄ (LTB₄), czynnik aktywujący płytki (PAF), kalikreina, fibryna, IL-8 i inne chemokiny, IL-1, TNF, TGF- β [2]. Łącząc się ze swoistymi receptorami rozmieszczonymi na powierzchni komórki (np. CR1, CR3, CR4, CD88, CD121a, CDw128), zostaje uruchomiona kaskada reakcji biochemicznych, umożliwiającą przekazanie informacji do odpowiednich struktur efektorowych, w tym przypadku pseudopodiów, decydujących o ruchu komórki.

Tonetti et al. [15] przedstawili roboczy model migracji neutrofili z wnętrza naczyń w kierunku kieszonki dziąsłowej. W interakcjach z macierzą pozakomórkową tkanki łącznej dziąsła istotną rolę odgrywają receptory β_1 integrynowe, np. VLA-2,

VLA-4. Na komórkach nabłonka łączącego opisano występowanie gradientu ICAM-1 i IL-8, a najwyższa ekspresja tych molekuł była w najbardziej powierzchniowych warstwach nabłonka i w płynie dziąsłowym. Gradient tych molekuł a także uwalnianej przez bakterie fMLP, składników dopełniacza oraz LTB₄ steruje ruchem granulocytów obojętnochłonnych w kierunku płytki poddziąsłowej [15]. W tej sytuacji brak odpowiedzi chemotaktycznej tych komórek musiałby skutkować progresywnym przebiegiem zapalenia przyzębia. Najlepiej i najszerzej opisanym zaburzeniem funkcji czynnościowej neutrofilii w periodontologii jest istotne upośledzenie chemotaksji tych komórek izolowanych z krwi obwodowej pacjentów ze zlokalizowanym agresywnym zapaleniem przyzębia (LAP), zwanym dawniej młodzieńczą postacią tej choroby [5–7, 16]. Najczęściej wykazywano obniżenie chemotaksji w odniesieniu do takich chemotatraktantów, jak: składniki dopełniacza, zawiesina *E. coli*, zymosan, inulina, fMLP. W naszym ośrodku znaczące upośledzenie chemotaksji u pacjentów z LAP wykazał Ziętek w odniesieniu do zymosanu, inuliny i toksyny *Staphylococcus aureus* [16]. Początkowo za molekularną podstawę tego defektu uważano obniżoną ekspresję receptorów CD88 i dla fMLP [17]. Obserwacje Van Dyke et al. [18] dotyczące nieprawidłowej ekspresji glikoproteiny GP110 wskazały na postreceptorowy mechanizm upośledzenia chemotaksji u tych pacjentów. Wysunięto hipotezę o nieprawidłowościach w przekazywaniu sygnału wewnątrz neutrofilu w wyniku aktywacji fosfodiesteraz i mechanizmu działania białek G, co występuje w przypadku receptorów CD88, CDw128 i dla fMLP. Około 40% zmniejszenie gęstości tych receptorów mogłoby być związane z ograniczeniem ekspresji białka GP110, a to z kolei ze zmniejszoną aktywnością kinazy diacylglicerolowej, której aktywność reguluje gen na chromosomie 12 q [5, 6, 19]. W ten sposób można by wytłumaczyć genetyczne uwarunkowanie tej dysfunkcji, które postulowano wcześniej w pracach Genco et al. [17] oraz Boughmana et al. [20]. W tym ujęciu upośledzenie chemotaksji neutrofilii u pacjentów z LAP miałoby pochodzenie komórkowe, uwarunkowane genetyczną hiporeaktywnością receptorów lub/i upośledzeniem przekazywania sygnału na drodze pozareceptorowej.

Pewne obserwacje nie potwierdzają jednak tych ustaleń. Nawet w pracach wskazujących na istnienie tej układowej nieprawidłowości podawano, że dotyczyła ona 70–75% pacjentów z LAP [5, 6, 16, 18, 19]. Badania niektórych autorów nie wykazywały tego zaburzenia w krwi obwodowej [21–23]. Wątpliwości budził również fakt, iż pacjenci z udokumentowanym zaburzeniem chemo-

taksji neutrofilii, poza zmianami w przyzębiu, nie wykazywali podwyższonej skłonności do innych zakażeń. Idąc tym tokiem rozumowania, Agarwal et al. [24] podważyli tezę o endogennym i komórkowym charakterze tej nieprawidłowości u pacjentów z LAP. Wykazano bowiem, że nawet bardzo niskie stężenia cytokin prozapalnych (IL-1 β i TNF- α) w surowicy mogą modulować funkcje granulocytarne, a przede wszystkim hamować chemotaksję. W tym kontekście ważne są następujące obserwacje: niskie i zmienne stężenia mediatorów zapalnych przedostające się do krwiobiegu nawet w zlokalizowanej postaci agresywnego zapalenia przyzębia mogą zarówno uzbrajać neutrofile (potencjalizować pewne ich funkcje), jak i hamować chemotaksję przez redukcję receptorów CD88, dla fMLP, LTB₄, GP-110; surowice chorych z LAP zmieniają funkcje neutrofilii osób zdrowych w taki sposób, że komórki te wykazują nieprawidłowości typowe dla pacjentów z LAP [24]. Badania własne nad wpływem rozpuszczalnych molekuł adhezyjnych (sICAM-1 i selektyny P) potwierdzają możliwość hamowania funkcji neutrofilii prawdopodobnie w wyniku blokowania receptorów. Dowodzi to, że również inne czynniki surowicze mogą wzmacniać efekt oddziaływania cytokin na granulocyty obojętnochłonne. Na nabyty charakter upośledzenia chemotaksji neutrofilii w przebiegu LAP wskazują obserwacje zdecydowanie obniżonej odpowiedzi chemotaktycznej w kierunku fMLP komórek z płynu dziąsłowego [25]. W tym środowisku szczególnie istotne może być bezpośrednie oddziaływanie bakterii (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Capnocytophaga* sp.) na leukocyty (zabijanie, blokowanie funkcji), jak i ich wpływ na miejscowe uwalnianie czynników prozapalnych. Według nas obniżenie chemotaksji neutrofilii u pacjentów z LAP ma prawdopodobnie charakter wtórny do toczącej się periodontopatii i przejściowy, związany z nasileniem się odpowiedzi immunologiczno-zapalnej.

Nieprawidłowości fagocytozy oraz mechanizmów tlenowozależnego zabijania drobnoustrojów przez granulocyty obojętnochłonne

Najbardziej efektywnym mechanizmem pochłaniania drobnoustrojów przez neutrofile jest immunofagocytoza, w której dochodzi do interakcji między opsoninami, czyli przeciwciałami i składnikami dopełniacza a receptorami komórko-

wymi: CD16b, CD32 dla Fc IgG oraz CR1, CR3, CR4, CD46, CD88 dla składników dopełniacza. Do innych mechanizmów ułatwiających związanie bakterii przez komórki żerne należą lektynofagocytoza oraz podobne w działaniu do opsonin białko CRP i wiążące lipopolisacharyd [1]. Niszczenie drobnoustrojów odbywa się wewnątrzkomórkowo w fagolizosomach. Niekiedy dochodzi jednak do pozakomórkowego uwalniania zawartości fagolizosomów, np. w czasie takich procesów, jak „regurgitation during feeding”, „lysis from within”, „frustrated phagocytosis” lub po tzw. uzbrojeniu komórki, co prowadzi do uszkodzenia okolicznych tkanek [2]. Mechanizmy te odpowiednio zachodzą, jeżeli: została pochłonięta zbyt duża liczba cząstek przez komórkę, doszło do rozerwania błony komórkowej, występowały zbyt duże cząstki do sfagocytowania oraz po stymulacji IL-1, TNF- α , IL-8, GM-CSF.

U części pacjentów z LAP wykazywano obniżoną zdolność pochłaniania *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* przez granulocyty izolowane z krwi obwodowej [6, 7]. W badaniach własnych u 25–50% chorych z ograniczoną i uogólnioną formą agresywnego zapalenia przyzębia stwierdzano upośledzoną zdolność fagocytowania *Staphylococcus aureus* i cząstek lateksu przez te komórki [10, 11, 26]. O wtórnym charakterze tej nieprawidłowości w odniesieniu do choroby przyzębia świadczy możliwość wyrównania zaburzenia w następstwie przeprowadzonego leczenia periodontologicznego [11]. Również i w tym przypadku możliwość czasowego blokowania receptorów fagocytarnych przez mediatory uwalniane w przebiegu *periodontitis* powinna być brana pod uwagę jako potencjalny mechanizm etiopatologiczny.

Dla immunofagocytozy i zabijania *Actinobacillus actinomycescomitans* (*A. a.*) oraz innych bakterii z polisacharydem w otocze kluczowa jest obecność IgG2, które łączą się głównie z receptorami CD32 na neutrofilach. Badania Wilsona i Kalmara [27] dowiodły, że u homozygot dla odmiany allotypowej R receptora Fc γ RIIa na komórkach fagocytujących (w pozycji 131 występuje histydyna) wiązanie IgG2 jest upośledzone, przez co pochłanianie jest obniżone o 3 razy, a wewnątrzkomórkowe niszczenie *A. a.* opsonizowanych tymi przeciwciałami o 7 razy. Polimorfizm genów na chromosomie pierwszym kodujących odmiany allotypowe receptora CD32 jest istotnym czynnikiem ryzyka rozwinienia się LAP. Jakościowe zmiany receptorowe determinujące efektywność odpowiedzi przeciwciała-neutrofil mają rozkład zróżnicowany populacyjnie, czym tłumaczy się między innymi większą frekwencję LAP u rasy czarnej [27].

Do oceny tlenowych mechanizmów zabijania bakterii przez neutrofile izolowane od pacjentów

z periodontopatiami wykorzystywano: metodę chemiluminescencji [28–30, 32, 33], redukcji błękitu nitratetrazoliowego (NBT) do formazanu [10, 32] oraz cytometrię przepływową [31, 34]. Najczęściej obserwowano nasilony wybuch oddechowy u pacjentów z LAP po stymulacji *Staphylococcus aureus* opsonizowanymi autologiczną surowicą lub IgG [29] oraz nieopsonizowanym i opsonizowanym IgG zymosanem, a także fMLP [33] oraz obniżoną chemiluminescencję i wydzielanie anionu ponadtlenkowego u osób z uogólnionym agresywnym zapaleniem przyzębia (GAP) po stymulacji fMLP [22, 30] i zymosanem [28]. Badania własne wskazują jednoznacznie, że leczenie periodontologiczne wyrównuje te nieprawidłowości, co jest pośrednim dowodem na ich wtórny, w odniesieniu do zakażeń kieszonek dziąsłowych, charakter [30]. Pozorną sprzeczność co do nasilenia lub obniżenia tlenowych mechanizmów zabijania bakterii w LAP i GAP można wytłumaczyć między innymi różnym poziomem reaktywności metabolicznej komórek. Obserwowano zmniejszenie gęstości receptorów dla fMLP po stymulacji surowicą pacjentów z *periodontitis* oraz IL-1 β i TNF- α [24], a także sugerowano zahamowanie przekazywania sygnału między receptorem dla fMLP a oksydazą NADPH [22]. U pacjentów z GAP zastosowanie innych stymulantów wybuchu oddechowego (np. PMA – octanu mirystynianu forbolu i zymosanu opsonizowanego ludzką surowicą) nie prowadziło do istotnych różnic w odpowiedzi tlenowej neutrofilii w porównaniu do kontroli. U młodych pacjentów z LAP postuluje się częstsze występowanie populacji uzbrojonych granulocytów obojętnochłonnych, które odpowiadają zwiększonym wybuchem oddechowym w warunkach swoistej stymulacji [31]. Badania Shibata et al. [35] nad wytwarzaniem tlenu azotu i aktywnością syntazy tlenu azotu u pacjentów z LAP wykazały, że często występuje u nich fenotyp uzbrojonych neutrofilii, na których pod wpływem swojego ligandu dochodzi do ekspresji receptorów „uczulających” komórkę, co prowadzi do nadmiernej odpowiedzi, przejawiającej się np. hiperprodukcją reaktywnych pochodnych tlenu. Zjawisko to mogą powodować cytokiny prozapalne, np. TNF- α , IL-1 β [3, 24]. Zaobserwowano także zróżnicowaną zdolność wywoływania wybuchu oddechowego wśród bakterii, a nawet ich szczepów, patogennych dla przyzębia. Na przykład wybuch oddechowy neutrofilii mierzony w cytometrii przepływowej pod wpływem stymulacji 8 szczepami *Porphyromonas gingivalis* wahał się od 20,9 do 98,3% [34]. Stwierdzenie lub niestwierdzenie hiperreaktywności neutrofilii w syntezie reaktywnych pochodnych tlenu można zatem tłumaczyć wahaniami w występowaniu populacji uzbrojo-

nych komórek, zróżnicowaniem jakościowym i ilościowym czynników uzbrajających i bakterii w kieszonkach przyzębnych. Ciekawa dla opisu interakcji swoistych bakterii patogennych dla przyzębia z neutrofilami jest obserwacja Kalmara et al. [36], którzy wykazali, że mimo właściwego pochłaniania *A. a.* przez komórki, występował defekt wewnątrzkomórkowego zabijania tych bakterii. Sugeruje się, że w LAP może współistnieć jakościowy defekt wewnątrzkomórkowego zabijania swoistych drobnoustrojów, co mogłoby w pewnym stopniu tłumaczyć brak zakażeń układowych u tych pacjentów.

Wykazywano również istotne upośledzenie żywotności neutrofilii izolowanych z płynu dziąsłowego w LAP [37], fagocytozy cząstek lateksu [11] oraz wybuchu oddechowego po stymulacji PMA [38] we wszystkich odmianach klinicznych *periodontitis*. W badaniach własnych wykazano 12% zmniejszenie pochłaniania cząstek lateksu przez te komórki, a defekt na poziomie 2 odchyień standardowych poniżej średniej dla grupy kontrolnej występował u 28% pacjentów z GAP, 33% z przewlekłym zapaleniem przyzębia (CP) i 50% z LAP [11]. Obserwacje te tłumaczy się miejscowym supresyjnym wpływem, głównie bakterii płytki poddziąsłowej i ich produktów na zdolność przeżycia i inaktywacji drobnoustrojów przez granulocyty. Badania nad występowaniem i ekspresją receptorów CR3, LFA-1, FcγRII i FcγRIII neutrofilii płynu dziąsłowego wskazują, że kinetyka receptorowa odbiega od ocenianej na komórkach w obwodowym łożysku naczyniowym [13, 39–41]. W płynie dziąsłowym wykazano znacząco mniejszą liczbę komórek z ekspresją receptorów CR3 i LFA-1 [13], dłuższe utrzymywanie się ekspresji receptorów CR3 [39], bardzo niskie stężenie mRNA CD11b, niekorelujące z ekspresją receptorów CR3 [40] oraz niższą ekspresję receptorów fagocytarnych FcγRII i FcγRIII [41]. Różnice te są zapewne następstwem ekspozycji powierzchni granulocytów na wysokie stężenia czynników stymulujących, jak np. lipopolisacharydów, produktów bakteryjnych i cytokin prozapalnych. Im dłuższa obecność granulocytów obojętnochłonnych w płynie dziąsłowym, tym mniejsza zdolność *de novo* syntezy receptorów i tym bardziej upośledzona funkcja komórki.

Inne funkcje granulocytów obojętnochłonnych w zapaleniach przyzębia

W ostatnim okresie zwrócono uwagę na neutrofile jako aktywne komórki regulujące odporność

wiedź odpornościową. Składa się na to zdolność po odpowiedniej stymulacji do syntezy wielu białek regulatorowych, takich jak interleukiny (1 i jej inhibitor, 6, 8, 10, 12), TNF-α, IFN-γ oraz czynniki wzrostu (G-CSF, GM-CSF) [2, 3]. W odpowiednich warunkach dochodzi również do ujawnienia się na ich powierzchni antygenów MHC klasy I i II, dzięki czemu mogą uczestniczyć w rozpoznawaniu i prezentowaniu antygenów. Wykazano wzrastającą ekspresję HLA-DR na neutrofilach płynu dziąsłowego, zależną od mikrośrodowiskowych czynników prozapalnych [42]. Wcześniej już określono wpływ IL-8, ICAM-1, IL-1β, TNF-α lub G-CSF i GM-CSF na takie funkcje granulocytów, jak: migracja i zasiedlenie tkanki, uzbrojenie, tlenowe i pozatlenowe mechanizmy zabijania drobnoustrojów. Obecnie podkreśla się parakrynnny i/lub autokrynnny wpływ tych cytokin na uwalnianie *de novo* przez neutrofile cytokin prozapalnych IL-1β, IL-8, TNF-α. W związku z ich dominacją w naciekach łącznotkankowych zmienionego zapalnie dziąsła oraz w płynie dziąsłowym kieszonek przyzębnych, neutrofile, obok komórek nabłonkowych, stają się ważnym źródłem cytokin prozapalnych w przebiegu zapalenia przyzębia. Wykazano zróżnicowaną zdolność lipopolisacharydów bakterii patogennych dla przyzębia do stymulacji wydzielania tych mediatorów przez neutrofile. Lipopolisacharydy *Actinobacillus actinomycetemcomitans* i *Fusobacterium nucleatum* w przeciwieństwie do *Porphyromonas gingivalis* i *Capnocytophaga ochracea* są zdolne do stymulowania granulocytów do biosyntezy znaczących ilości IL-1β, TNF-α, IL-8 i IL-1ra [43]. Badania Liu et al. [44] wskazują na ścisły związek ekspresji IL-8, ICAM-1, IL-1β, TNF-α w dziąśle z naciekiem neutrofilii w podnabłonkowej tkance łącznej u pacjentów z GAP. Im większy jest naciek tych komórek, tym większa ekspresja cytokin zapalnych i większa destrukcja zapalna tkanki łącznej. Wskazuje to na związek między nasiloną akumulacją neutrofilii a zaawansowaniem zniszczenia tkanek i zapalenia. Badania hodowli granulocytów obojętnochłonnych izolowanych z krwi obwodowej i jamy ustnej po przepłukaniu (tzw. oral PMN) pacjentów z CP dowodzą, że różnice w wydzielaniu IL-1β, TNF-α w odniesieniu do kontroli zaznaczały się dopiero po stymulacji GM-CSF [45]. Wykazano większą syntezę IL-1β przez komórki z jamy ustnej oraz większe wydzielanie tej cytokiny przez neutrofile z krwi obwodowej u pacjentów z mniej zaawansowaną periodontopatią w odniesieniu do przypadków zaawansowanego przewlekłego zapalenia przyzębia. Stwierdzono jednak bardzo znaczące międzypacjentowe różnice wśród pacjentów z CP w wydzielaniu IL-1β przez granulocyty obojętnochłonne po stymulacji [45]. Następnie zaobserwo-

wano, że zwiększone wydzielanie IL-1 β przez oral PMN u pacjentów z zaawansowaną chorobą przyzębia występuje u osób mających 2 allele IL-1 β ⁺³⁹⁵³ [46]. Wskazuje to na genetyczne uwarunkowanie hiperreaktywności neutrofili w wydzielaniu IL-1 β po stymulacji. Również granulocyty obojętnochłonne muszą więc być brane pod uwagę jako źródło cytokin prozapalnych w rozważaniach na temat asocjacji genotypu cytokinowego z postępem periodontopatii i rokowaniem terapii.

Warunkiem wycofania się stanu zapalnego po opanowaniu zakażenia jest opuszczenie tkanki przez leukocyty, w tym i neutrofile. W przyzębiu proces ten zachodzi głównie w wyniku ciągłej wędrówki fagocytów przez tkankę łączną i nabłonek kieszonki do płynu dziąsłowego, którego wymiana jest szacowana na około 40 razy na godzinę. W niewielkim procencie granulocyty w tkance łącznej dziąsła i płynie dziąsłowym są eliminowane przez apoptozę [47, 48]. Jest to rodzaj śmierci komórki, w której dochodzi do defragmentacji materiału genetycznego i zamknięcia cytoplazmy w pęcherzykach apoptycznych, dzięki czemu nie powstaje stan zapalny. Uwarunkowania miejscowe opóźniające apoptozę wydłużają zasiedlanie tkanek przez te komórki i przyczyniają się do przewlekania się stanu zapalnego i destrukcji tkanek. W tkankach przyzębia funkcję taką spełniają kationowe poliaminy, np. putresceina, spermidyna, które wydostają się z komórek bakteryjnych lub gospodarza w wyniku ich lizy [47]. W przypadku obecności TNF- α poliaminy hamują uzbrajanie neutrofili, przy braku TNF- α nasilają ich reaktywność i opóźniają apoptozę [47]. Podobne oddziaływanie na apoptozę mogą przejawiać IL-8 i GM-CSF oraz produkowane przez Gram-ujemne beztlenowe pałeczki i ziarniaki niektóre krótkołańcuchowe kwasy karboksylowe (SCCA), np. propionowy i masłowy w niskich stężeniach (1 mM). W przypadku wyższych stężeń (30 mM) wszystkie

SCCA, z wyjątkiem kwasu mlekowego, nasilają apoptozę neutrofili [48].

Przez ćwierć wieku badania nad aktywnością granulocytów obojętnochłonnych w zapaleniach przyzębia zatoczyły zadziwiające koło. Rozpoczęto od ocen zmniejszonej funkcji tych komórek, aby obecnie uznawać ich nadreaktywność o podłożu genetycznym, a czynniki nasilające ich zaprogramowaną śmierć uznawać za korzystne dla przebiegu choroby. Powstaje zatem pytanie o rzeczywistą rolę tych komórek w immunoetiopatogenezie periodontopatii. Odpowiedź na nie musi być ambiwalentna, bo taka jest natura tych komórek. Zarówno upośledzenie, jak i nasilenie ich reaktywności może prowadzić do patologii. Na ogół panuje zgodność, że występuje ona najczęściej w samych tkankach przyzębia, a większość z opisywanych zaburzeń ma naturę wtórną do zakażeń drobnoustrojami patogennymi dla przyzębia i uruchomienia odpowiedzi immunologiczno-zapalnej. Chociaż nie brak głosów, że nadreaktywność w wydzielaniu cytokin prozapalnych może być istotna w etiopatogenezie przedwczesnych porodów i miażdżycy naczyń wraz z powikłaniami zakrzepowo-zatorowymi. Reaktywność granulocytów obojętnochłonnych, z pewnością ważna, jest jednak tylko jednym z wielu czynników powstawania periodontopatii. Dążenie w terapii periodontologicznej do nasilenia lub wyhamowania funkcji tych komórek z pewnością nie przyniesie trwałej remisji choroby. Zastosowanie analizy wieloczynnikowej pozwoliło bowiem na oszacowanie wpływu czynnika gospodarza na powstanie i postęp choroby przyzębia na około 30% [4]. Oznacza to konieczność zaproponowania takich schematów kompleksowego leczenia, które uwzględniłyby jak największą liczbę modyfikowalnych czynników ryzyka tych patologii. Jest to współcześnie najważniejsze zadanie stojące przed praktyczną periodontologią.

Piśmiennictwo

- [1] MALE D.: Migracja komórek i zapalenie. W: Immunologia. Red.: Roitt I., Brostoff J., Male D., Wydawnictwo Medyczne Słotwiński Verlag, Brema, 1996, 14.1–14.9.
- [2] ZEMAN K.: Współczesne poglądy na rolę granulocytów obojętnochłonnych (neutrofilów) w procesach zapalnych. Immunol. Pol. 1993, 18, 3–44.
- [3] TCHÓRZEWSKI H.: Udział neutrofili w zjawiskach odporności. W: Zaburzenia odporności wieku rozwojowego. Red.: Jankowski A., Lewandowicz-Uszyńska A. Wrocław 1997, 19–23.
- [4] PAGE R.C., OFFENBACHER S., SCHROEDER H., SEYMOUR G., KORNMAN K.: Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. Periodontol. 2000, 1997, 14, 216–248.
- [5] HART T., SHAPIRA L., VAN DYKE T.E.: Neutrophil defects as risk factor for periodontal diseases. J. Periodontol. 1994, 65, 521–529.
- [6] VAN DYKE T. E., CHAMPAGNE C. M. E.: Neutrophils and oral disease. Dtsch. Zahnärztl. Z. 1995, 50, 278–286.
- [7] CIANCIOLO L. J., GENCO R. J., PATTERS M. R., MCKENNA J., VAN OSS C.: Defective polymorphonuclear leukocyte function in a human periodontal disease. Nature 1977, 265, 445–447.

- [8] ZIĘTEK M.: Rola granulocytów w reakcjach immunologicznych. Wrocł. Stom. 1988, 189–193.
- [9] AGARWAL S., SUZUKI J. B., PIESCO N., AICHELMANN-REIDY M.: Neutrophil function in juvenile periodontitis: induction of adherence. Oral Microbiol. Immunol. 1994, 9, 262–271.
- [10] ZIĘTEK M.: Aktywność granulocytów obojętnochłonnych w pomłodzieńczym zapaleniu przyzębia. Praca habilitacyjna, Wrocław 1990.
- [11] KONOPKA T.: Wpływ leczenia chirurgicznego i farmakologicznego na aktywność neutrofilów w progresywnych zapaleniach przyzębia. Praca doktorska, Wrocław 1993.
- [12] KATSURAGI K., TAKASHIBA S., KURIHARA H., MURAYAMA Y.: Molecular basis of leukocyte adhesion molecules in early-onset periodontitis patients with decreased CD11/CD18 expression on leukocytes. J. Periodontol. 1994, 65, 949–957.
- [13] MOUYNET P., PICOT C., NICOLAS P., GENETET B., APIOU J., GENETET N., MICHEAL J.: Ex vivo studies of polymorphonuclear neutrophils from patients with early-onset periodontitis. III. CR3 and LFA-1 expression by peripheral blood and gingival crevicular polymorphonuclear neutrophils. J. Clin. Periodontol. 1995, 22, 110–117.
- [14] TONETTI M., MOMBELLI A.: Early-onset periodontitis. Ann. Periodontol. 1999, 4, 39–52.
- [15] TONETTI M., IMBODEN M., LANG N.P.: Neutrophil migration into gingival sulcus is associated with transepithelial gradients of interleukin-8 and ICAM-1. J. Periodontol. 1998, 69, 1139–1147.
- [16] ZIĘTEK M.: Aktywność migracyjna granulocytów obojętnochłonnych w młodzieńczym i pomłodzieńczym zapaleniu przyzębia. Czas. Stom. 1994, 47, 379–384.
- [17] GENCO R.J., VAN DYKE T.E., LEVINE M., NELSON R., WILSON M.E.: Molecular factors influencing neutrophil defects in periodontal disease. J. Dent. Res. 1986, 65, 1379–1391.
- [18] VAN DYKE T.E., WARBINGTON M., GARDNER M., OFFENBACHER S.: Neutrophil surface protein markers as indicators of defective chemotaxis in LJP. J. Periodontol. 1990, 61, 180–184.
- [19] DE NARDIN E.: The molecular basis for neutrophil dysfunction in early-onset periodontitis. J. Periodontol. 1996, 67, 345–354.
- [20] BOUGHMAN J. A., ASTEMBORSKI J. A., SUZUKI J. B.: Phenotypic assessment of early onset periodontitis in sibships. J. Clin. Periodontol. 1992, 19, 233–239.
- [21] REPO H., SAXEN L., JÄÄTTELÄ M., RISTOLA M., LEIRISALO-REPO M.: Phagocyte function in juvenile periodontitis. Infect. Immun. 1990, 58, 1085–1092.
- [22] BIASI D., BAMBARA L. M., CARLETO A., CARAMASCHI P., ANDRIOLI G., URBANI G., BELLAVITE P.: Neutrophil migration, oxidative metabolism and adhesion in early onset periodontitis. J. Clin. Periodontol. 1999, 26, 563–568.
- [23] TAKAHASHI K., OHAYAMA H., KITANAKA M., SAWA T., MINESHIRA J., NISHIMURA F., ARAI H., TAKASHIBA S., MURAYAMA Y.: Heterogeneity of host immunological risk factors in patients with aggressive periodontitis. J. Periodontol. 2001, 72, 425–437.
- [24] AGARWAL S., HUANG J.P., PIESCO N. P., SUZUKI J.B., RICCELLI A., JOHNS L.: Altered neutrophil function in localized juvenile periodontitis: intrinsic or induced? J. Periodontol. 1996, 67, 337–344.
- [25] SIGUSCH B., EICK S., PFISTER W., KLINGER G., GLOCKMANN E.: Altered chemotactic behavior of crevicular PMNs in different forms of periodontitis. J. Clin. Periodontol., 2001, 28, 162–167.
- [26] ZIĘTEK M.: Bestimmung der Phagocytose bei Patienten mit Periodontitis postjuvenilis bei Anwendung der Isotopenmethode. Stom. DDR, 1990, 40, 33–37.
- [27] WILSON M. E., KALMAR J.: FcγRIIa (CD32): a potential marker defining susceptibility to localized juvenile periodontitis. J. Periodontol. 1996, 67, 323–331.
- [28] ZAFIROPOULOS G.-G., FLORES-DE JACOBY L., CZERCH W.: Chemilumineszenz-Untersuchung von peripheren neutrophilen Granulozyten bei Patienten mit rasch fortschreitender Parodontitis. Schweiz. Monatsschr. Zahnmed. 1987, 97, 1219–1222.
- [29] ÅSMAN B.: Peripheral PMN cells in juvenile periodontitis. J. Clin. Periodontol. 1988, 15, 360–364.
- [30] KONOPKA T.: Einfluß der Parodontaltherapie auf die Chemilumineszenz der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten. Stomatologie 1997, 94, 339–344.
- [31] KIMURA S., YONEMURA T., KAYA H.: Increased oxidative product formation by peripheral blood polymorphonuclear leukocytes in human periodontal diseases. J. Periodont. Res. 1993, 28, 197–203.
- [32] GOMEZ R. S., COSTA J. E., LORENTZ T. M., GARROCHO A. A., NOGUEIRA-MACHADO J. A.: Chemoluminescence generation and MTT dye reduction by polymorphonuclear leukocytes from periodontal disease patients. J. Periodont. Res. 1994, 29, 109–112.
- [33] LEINO L., HURTIA H. M., SORVAJÄRVI K., SEWON L. A.: Increased respiratory burst activity is associated with normal expression of IgG-Fc-receptors and complement receptors in peripheral neutrophils from patients with juvenile periodontitis. J. Periodont. Res. 1994, 29, 179–184.
- [34] CONRADS G., HERRLER A., MOONEN I., LAMPERT F., SCHNITZLER N.: Flow cytometry to monitor phagocytosis and oxidative burst of anaerobic periodontopathogenic bacteria by human polymorphonuclear leukocytes. J. Periodont. Res. 1999, 34, 136–144.
- [35] SHIBATA K., WARBINGTON M., GORDON B., KURIHARA H., VAN DYKE T. E.: Nitric oxide synthase activity in neutrophils from patients with localized aggressive periodontitis. J. Periodontol. 2001, 72, 1052–1058.
- [36] KALMAR J. R., ARNOLD R. R., VAN DYKE T. E.: Direct interaction of Actinobacillus actinomycetemcomitans with normal and defective (LJP) neutrophils. J. Periodont. Res. 1987, 22, 179–181.
- [37] SIGUSCH B., SCHMIDT H., KLINGER G.: Leukozyten des Gingivasulkus bei Patienten mit Gingivitis, Parodontitis und humoralem Immundefekt. Dtsch. Zahnärztl. Z. 1992, 47, 757–760.

- [38] LOESCHE W. J., ROBINSON J. P., FLYNN M., HUDSON J. L., DUQUE R.: Reduced oxidative function in gingival crevicular neutrophils in periodontal disease. *Infect. Immun.* 1988, 56, 156–160.
- [39] WATANABE K., HAGEN K. L., RAMAKRISHNAN V., ANDERSEN B.: Kinetics of CD11b expression on neutrophils isolated from subjects with healthy gingivae and patients with advanced periodontitis. *J. Periodont. Res.* 1993, 28, 137–144.
- [40] WATANABE K., BLEW B., SCHERER M., BURKE J., KOH G., BLOCK C., RAMAKRISHNAN V., FROMMEL T. O.: CD11b mRNA expression in neutrophils isolated from peripheral blood and gingival crevicular fluid. *J. Clin. Periodontol.* 1997, 24, 814–822.
- [41] MIYAZAKI A., KOBAYASHI T., SUZUKI T., YOSHIE H., HARA K.: Loss of Fc γ receptor and impaired phagocytosis of polymorphonuclear leukocytes in gingival crevicular fluid. *J. Periodont. Res.* 1997, 32, 439–446.
- [42] BISSON-BOUTELLIEZ C., MILLER N., DEMARCH D., BENE M.C.: CD9 and HLA-DR expression by crevicular epithelial cells and polymorphonuclear neutrophils in periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 2001, 28, 650–656.
- [43] YOSHIMURA A., HARA Y., KANEKO T., KATO I.: Secretion of IL-1 β , TNF- α , IL-8 and IL-1ra by human polymorphonuclear leukocytes in response to lipopolysaccharides from periodontopathic bacteria. *J. Periodont. Res.* 1997, 32, 279–286.
- [44] LIU R. K., CAO C. F., MENG H. X., GAO Y.: Polymorphonuclear neutrophils and their mediators in gingival tissues from generalized aggressive periodontitis. *J. Periodontol.* 2001, 72, 1545–1553.
- [45] GALBRAITH G., HAGAN C., STEED R. B., SANDERS J., JAVED T.: Cytokine production by oral and peripheral blood neutrophils in adult periodontitis. *J. Periodontol.* 1997, 68, 832–838.
- [46] GALBRAITH G., HENDLEY T., SANDERS J., PALESCH Y., PANDEY J.: Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 1999, 26, 705–709.
- [47] RATASIRAYAKORN W., LEONE P., LEBLEBICIOGLU B., WALTERS J. D.: Polyamines found in the inflamed periodontium inhibit priming and apoptosis in human polymorphonuclear leukocytes. *J. Periodontol.* 1999, 70, 179–184.
- [48] STEHLE H. W., LEBLEBICIOGLU B., WALTERS J. D.: Short-chain carboxylic acids produced by gram-negative anaerobic bacteria can accelerate or delay polymorphonuclear leukocyte apoptosis *in vitro*. *J. Periodontol.* 2001, 72, 1059–1063.

Adres do korespondencji:

Tomasz Konopka
Katedra i Zakład Periodontologii AM we Wrocławiu
ul. Kuźnicza 43/45
50-138 Wrocław
e-mail: paradont@stom.am.wroc.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 18.03.2002 r.
Zaakceptowano do druku: 26.03.2002 r.

Received: 18.03.2002
Accepted: 26.03.2002