

KERATİNİZASYON GÖSTERMEYEN ODONTOJENİK KİSTLERDE SIVI İÇERİĞİNİN BİYOKİMYASAL VE İMMUNOLOJİK AÇIDAN İNCELENMESİ

Dr. M. Kemal YAMALIK*, Dt. Engin BULUT**, Dt. İ. Levent ARAL*

ÖZET

Kist sıvısı içeriğinin kistlerin ayırıcı tanısında, ayrıca patogene-
zinde rol oynayabileceği ileri sürülmektedir. Bu çalışmada kera-
tinizasyon göstermeyen 10 odontojenik kistin sıvıları biyokimyasal
ve immünolojik yöntemlerle incelenmiştir. Tüm kist sıvılarında
proteoglikan varlığı saptanmış, ayrıca ortalama immunglobulin
(IgG, IgA, IgM) değerlerinin tümü normal serum değerlerinin ol-
dukça üstünde bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler : Kist Sıvısı, Proteoglikan, İmmunglobulin.

ZUSAMMENFASSUNG

DIE BIOCHEMISCHE UND IMMUNOLOGISCHE UNTERSUCHUNG DER FLÜSSIGKEIT VON ODONTOGENEN ZYSTEN

Es wird behauptet, dass die Zysteflüssigkeit bei der Differen-
tialdiagnose und der Pathogenese von Zysten eine Rolle spielt. In
dieser Studie wird die Flüssigkeit von 10 odontogenen Zysten durch
biochemischen und immunologischen Methoden untersucht. In der
Flüssigkeit aller Zysten wird proteoglikan festgestellt, nebenbei

(*) G.Ü. Dişhekimliği Fakültesi A.D.Ç.H. ve C. Anabilim Dalı Araştırma
Görevlisi.

(**) H.Ü. Dişhekimliği Fakültesi A.D.Ç.H. ve C. Anabilim Dalı Araştırma
Görevlisi.

waren die durchschnittliche Immunglobulinwerte (IgG, IgA, IgM) höher als Normalwerte.

Schlüssehvörter : Zysteflüssigkeit, Proteoglikan, Immunglobulin

GİRİŞ

Son yıllarda çenelerin kistik lezyonlarının orjinine, gelişimine, klinik ve radyolojik görünümüne, etyopatolojisine ve tedavilerine ilişkin bilgiler artmış olmakla beraber, konuya ilişkin görüş ayrılıkları sürmektedir (11). Kist kavitesini dolduran sıvının varlığı ise kistin önemli bir bölümü olarak değerlendirilse de, içeriğine yönelik araştırmalar nispeten daha azdır (5, 11, 13, 18).

Bugün bu sıvının protein ve non-protein yapıda birçok değişik bileşik içerdiği bilinmektedir (5, 12, 13, 17, 18). Bunlar arasında prostoglandin-benzeri maddeler, enzimler, prolifer epitel hücreleri, polimorfonükleer lökositler, glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar, immunoglobulinler, albumin, α_1 -antitripsin, α_2 -makroglobulin, seruloplasmin, transferrin, fibrinojen ve C3 varlığı sayılabilir (5, 11, 13). Bu bileşiklerin kist gelişim ve patolojisindeki rollerine ilişkin değişik teoriler ileri sürülmektedir (5, 11, 13). Ayrıca, kist sıvısı içeriğinin klinik ve radyolojik parametreler yanısıra kistlerin ayırıcı tanısında da kullanılabilceği önerilmektedir (5, 11).

İmmunoglobulinler, antijenler ile spesifik kombinasyonlar yapan antikor aktivitesine sahip protein molekülleridir. Total plazma proteinlerinin yaklaşık % 20'sini oluştururlar. Fiziksel, kimyasal ve antijenik farklılıklarına göre IgG, IgM, IgA, IgD ve IgE olmak üzere beş sınıfa ayrılmaktadırlar. Bu farklı gruplar ekstraselüler sıvılarda, ekzokrin salgılarda ve bazı lenfositlerin yüzeylerinde değişik oranlarda bulunurlar (16). Bir çok sıvının yanında kist sıvısı içinde de varlıkları saptanmıştır (5, 13). Ayrıca, seruma oranla kist sıvılarının nispeten artan düzeyde immunoglobulin içerdiği bulunmuş ve kist lezyonu çevresinde lokal bir prodüksiyondan söz edilmiştir (5, 13).

Proteoglikanlar (PG), bağ dokusu ara maddesinin ekstraselüler matriksini oluşturan yüksek molekül ağırlığına sahip makromoleküllerdir (1, 10). Glikozaminoglikanlar (GAG) dokuda serbest olarak bulunmaktan çok proteine bağımlıdırlar ve proteoglikanlar

oluştururlar. PG'ların yapısında ayrıca oligosakkarit zincirleri de yer alır. PG'lar değişik ekstraselüler bileşenler ve hücre yüzeyleriyle etkileşirler. Karbonhidrat-karbonhidrat, PG-hücre yüzeyi ve PG-kollajen etkileşimleri yolu ile biyolojik fonksiyonlarını gerçekleştirirler (1, 8, 10). Bağ dokusunun majör komponentlerinden olan bu makromoleküller dokunun bütünlüğünün korunmasında, basınca karşı direnç göstermesinde, dokunun nemliliğinin oluşturulmasında, non-mineralize dokuların mineralize dokulara dönüşmesinde ve dokunun elastikiyetinin sağlanmasında rol oynadıkları gibi, hücre morfogenezine de aktif biçimde katılırlar (1, 10). Gingival bağ dokusu, periodontal ligament, alveol kemiği, dentin gibi oral dokuların yanı sıra iltihabı bir eksuda olan dişeti cep sıvısında da PG ve GAG'ların bulunduğu görülmüştür (15).

Gerek immunoglobulinlerin gerekse de PG'ların direkt serum kaynaklı olmaktan öte kist gelişimi sırasında lokal olarak üretimleri söz konusudur (12, 13, 14, 15, 18, 19). İmmunoglobulinlerin kist kavitesi çevresindeki plazma hücreleri tarafından üretilerek kist sıvısına geçtikleri ve bu sıvıda yüksek konsantrasyon oluşturdukları, ayrıca bakteriyel antijenik stimulusa karşı immun bir yanıt ile üretildikleri ileri sürülmektedir (5, 6, 13). PG ve GAG'ların ise kist sıvısının vizkozitesine katkıda bulunarak kistin büyümesinde rol oynadıkları düşünülmektedir (15, 18).

Görüldüğü gibi, gerek immunoglobulinlerin gerekse PG ve GAG'ların varlıklarının kistin oluşum ve gelişimi ile ilişkili olabileceği öne sürülmektedir. Bu çalışmanın amacı biyokimyasal ve immüno- lojik yöntemler kullanılarak kist sıvısı içeriğini incelemek ve immunoglobulin G, A, M ve PG miktarlarını belirlemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız G.Ü. ve H.Ü. Dişhekimliği Fakülteleri Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dallarına başvuran ve odontojenik kist tanısıyla opere edilen 10 hasta üzerinde yürütüldü. Her hastadan operasyon sırasında 1 ml. kist sıvısı bir kere kullanılan steril plastik enjektörlerle kan kontaminasyonu önlenerek alındı.

Elde edilen kist sıvıları partiküllü materyalin uzaklaştırılabilmesi için 2500 rpm de 10 dakika santrifüj edildi ve deneyler super-

(KİST SIVISININ BİYOKİMYASAL VE İMMÜNOLOJİK İNCELENMESİ)

natanda değerlendirildi. Elde edilen supernatan ise ikiye ayrılarak, bir kısmı immünolojik çalışmalar için kullanılırken, bir kısmı biyokimyasal incelemeler için kullanıldı. Kist sıvılarından elde edilen supernatan örnekleri -40°C de deney gününe kadar saklandı.

İmmunglobulin düzeyleri radyal immunodiffuzyon yöntemi ile belirlendi (9). Deney örneklerinin çözündürülmesini takiben örnekler «Behring Werke (Germany)» tarafından imal edilen LC-Partigen, IgA, IgG ve IgM plaklarına konuldu. Oluşan difuzyon halkalarının çapı ölçülerek örneklerde yer alan immunoglobulin düzeyleri saptandı.

Biyokimyasal analiz için ayrılan kist sıvısı, PG düzeylerinin belirlenmesi amacıyla kullanıldı. Bu amaçla örneklerdeki PG düzeyleri Bitter ve Muir'in (4) yöntemi ile belirlendi. Örnekler üzerine 0.02 ml setilpiridinyum klorür eklenerek çöktürme işlemi yapıldı ve 24 saat beklendi. 30 dakika 2500 rpm de santrifüjü takiben yabancı maddelerin uzaklaştırılması için % 1'lik 0.02 ml potasyum asetat eklenerek yine 24 saat beklendi. 0.5 ml distile su ile çözdürüldü ve yeniden santrifüj edildi. Supernatan PG miktarının tespiti için kullanıldı, spektrofotometrede 525 nm dalga boyunda heksuronik asit ölçümü yapıldı.

BULGULAR

Kist sıvısı örneklerinin tümünde IgG, IgA, IgM ve PG varlığı belirlendi.

10 kist sıvısında incelenen ortalama immunoglobulin değerleri şu şekilde saptandı: IgG: 5512 mg/dl. (5010-6100 mg/dl.), IgA: 518.5 mg/dl. (323-746 mg/dl.), IgM : 285.7 mg/dl. (228-381 mg/dl). Kist sıvısı ortalama immunglobulin değerleri serum normal değerlerinden (IgG: 1062 mg/dl., IgA: 144.4 mg/dl., IgM: 118 mg/dl.) oldukça yüksek bulunduğu gibi, saptanan tüm değerler normal serum değerlerinin üstündeydi (Tablo 1).

10 kist sıvısındaki ortalama PG miktarı ise 33.89 h. asit/ml. (16.70-57.37 h. asit/ml) olarak belirlendi (Tablo 2).

Tablo I : 10 Kist Sıvısı Örneğindeki İmmunglobulin değerleri (mg/dl)**Tablo II : 10 Kist Sıvısı Örneğindeki Proteoglikan değerleri (h.asit/ml)**

	IgG	IgA	IgM		O. Dansite	PG
1.	6100	608	229	1.	0.450	29.60
2.	5010	454	328	2.	0.280	18.42
3.	5410	435	381	3.	0.650	42.76
4.	5460	614	228	4.	0.420	34.40
5.	5540	608	232	5.	0.700	57.37
6.	5260	323	335	6.	0.390	31.96
7.	6100	746	229	7.	0.800	52.63
8.	5410	454	232	8.	0.380	22.09
9.	5010	608	328	9.	0.253	16.70
10.	5640	335	335	10.	0.502	33.04
Orta.	5512	518.5	285.7	Ortalama:		33.89

TARTIŞMA

Kist sıvısının içeriğine yönelik olarak yapılan araştırmalarda protein ve non-protein yapıda birçok bileşik olduğu gösterilmiştir (5). IgG, IgA ve IgM dışında α - ve β - globulinler ve albumin olmak üzere keratinize olmayan çene kistlerinde 11 değişik protein saptanmıştır (13, 14). Ayrıca, keratinizasyon göstermeyen ve keratinize kistlerin sıvı içeriğinin farklı olduğu, kreatinizasyon göstermeyen odontojenik kistlerde serumdakine yakın düzeylerde çözünebilir protein olduğu, bunların büyük oranda kandan geldiği, az bir kısmının ise kist duvarında yapılmış olduğu ileri sürülmüştür (5). İmmunoglobulinlerin keratinizasyon göstermeyen odontojenik kistlerde kapsülde lokal olarak üretildiği, kist kavitesine geçtiği ve kist sıvısındaki düzeylerinin serumdakinden birkaç kat fazla olduğu, odontojenik keratokistlerin ise yalnızca çok az miktarda immunoglobulin içerdiği gösterilmiştir (18). Dolayısıyla kist sıvısı içeriğinin protein ve non-protein yapıda bileşikler açısından incelenmesinin değişik kist tiplerinin patogenezi ve teşhisinde önemli ve yararlı olabileceği düşünülmektedir (6, 15, 18). Gerçekten de kist sıvısında düşük miktarda protein (<4 g/100 ml.), predominant olarak albumin (> % 70) ve ayrıca epitelyal döküntü varlığı saptan-

ması odontojenik keratokistin özellikleri arasında sayılmaktadır (18).

Kist sıvısı proteinlerinin bir çoğu kan yoluyla gelir. Kan damarlarından proteinlerin kist kavitesine geçişi, proteinlerin yalnızca moleküler ağırlığı ile ilgili değildir, aynı zamanda kan/kist sıvısı bariyeri (damar duvarı ve kist kapsülü) de önemli bir rol oynar. Bu özellikleriyle kist kapsülünü tümüyle gerçek biyolojik membranlarla kıyaslamak mümkün değildir (13).

Ekstravasküler plazma proteinleri ve yüksek immunoglobulin düzeyleri varlığı, kistik lenf sisteminin drenaj kapasitesinin üzerinde bir protein birikimini gösterir. Artan intrakistik basınç ise lenf kapillerlerinin endotelial bileşimlerini tıkayabilir. Sonuç olarak makromoleküller kist kavitesi içinde kalırken, küçük moleküller kan ve lenf kapillerlerine difüzyon gösterebilir (13).

Serumla kıyaslandığında odontojenik kist sıvısı daha yüksek oranda çözünebilir protein içerir. Albumin oransal olarak daha az iken β ve α globulinler daha fazladır (5, 6, 13). Protein daha çok enflamatuvar eksuda olarak oluşmaktadır (5). Çalışmamızda kist sıvısı içindeki ortalama immunoglobulin düzeylerinin tümü normal serum değerlerinden oldukça yüksek bulunmuştur. Yükselmiş kist sıvısı immunoglobulin düzeyleri daha önceki çalışmalarda da gösterilmiş bir bulgu olduğundan, sonuçlarımız önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir (7, 12, 13, 14, 19). Gerçekten de kist sıvısı özellikle yüksek miktarlarda IgA ve IgG içermektedir. IgA'nın serum oranla 5-10, hatta 20 kat, IgG'nin ise 4 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (12, 13, 18, 19). Immunoglobulinlerin kist sıvısındaki artan düzeyleri kist duvarındaki plazma hücrelerince yapılan lokal prodüksiyona, bu prodüksiyon ise smear'lerde saptanan bakterilerin kendilerinden çok ürettikleri bakteriyel toksinlere ve son yıkım ürünlerine bağlanmaktadır (5). Bu antikolar alternatif olarak dejenere olan doku hücrelerinden, özellikle de kisti çevreleyen epitelden kaynaklanan antijenlere bir yanıt olarak da oluşabilir (19). Ayrıca immunoglobulinlerin kapiller duvardan aktif transportla geçişi (mikropinositosis) serum immunoglobulinlerinin kist sıvısındaki birikimini açıklayabilir (13). Kist sıvısının non-immunoglobulin içeriği bu moleküllerin kist duvarından basit difüzyonu ile açıklanabilirse de, immunoglobulinler için bu görüş geçerli değildir (14).

Çalışmamızda kist sıvısı örneklerinin tümünde PG varlığı belirlenmiştir. Daha önceki çalışmalarda GAG ve PG'ların varlığı kist sıvılarında birlikte incelenmiş ve her ikisinin de değişik kist tiplerinde bulunduğu, kist sıvısının vizkozitesinin sağlanmasında önemli katkıları olduğu gösterilmiştir (15). Odontojenik kist sıvılarındaki varlıkları ayrıca hidrostatik basıncın oluşturulması, dolayısıyla da kistin genişlemesi ile ilgili bulunmuştur (18). GAG ve PG'ların basitçe serumdan kist sıvısına geçmiş olabilecekleri fikri kabul edilmemektedir, zira kapsüldeki bağ dokusu ve epitelden de kaynaklanabilmektedirler (15). Bağ dokusu yıkımını takiben bu makromoleküller serbestlenmekte ve kist sıvısına geçiş göstermektedirler, ancak keratokistlerin epiteli fazla geçirgen olmadığı için bu kistlerde lümeen geçiş nispeten sınırlı olmaktadır (15). Ayrıca epitel hücrelerindeki mukoz metaplazi odontojenik kistlerde GAG'ların varlığına katkıda bulunmaktadır (7). GAG ve PG'lar epitelin bazal membranı ve interselüler ara maddede de bulunurlar. Bu kaynak da kist sıvısındaki düzeylerinin oluşmasında rol oynayabilir (15). Odontojenik kistlerdeki hidrostatik basınç kapiller kan basıncından fazladır (18), bu da kistin büyümesinden sorumludur. Bu proteinler dışında doku metabolizmasının genel ürünlerinin serbestlenmesi de önemlidir ve bu mekanizma ile tüm odontojenik kistler genişleme gösterir. Bu mekanizmaların oluşmasında ise kist sıvısı içinde yer alan GAG ve PG'larında önemli fonksiyonları olduğu düşünülmektedir (15).

Yapılan çalışmanın bulguları, literatürdeki benzer çalışmalar ile uyumlu olarak kist sıvısının IgG, IgA, IgM ve PG içerdiğini göstermektedir. Bulgularımız kist sıvısı içeriğinin protein ve non-protein yapıdaki bileşikler açısından incelendiği diğer çalışmalar ile benzerlik göstermektedir (5, 6, 13, 15).

Kist sıvısındaki bileşenlerden özellikle PG ve GAG'ların kist gelişiminde aktif rol oynayabilecekleri fikri son yıllarda önem kazanmaktadır. Bu nedenle farklı kist tiplerinde PG düzeyleri yanı sıra GAG profilinde çıkarılması yararlı olabilir. Gerçekten de son yıllarda yapılan bir çalışmada kist sıvısında en çok hyaluronik asit rastlanmıştır. Heparan sülfatın görülme sıklığı ise keratokistlerde daha fazla olarak bulunmuştur (15).

Tüm bu bulgular kistlerin gerek ayırıcı tamsında, gerekse de patogenezinin daha iyi anlaşılmasında laboratuvar testlerinin de yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Bartold, P.M. : Proteoglycans of the Periodontium: Structure, Role and Function. *J. Periodont. Res.*, 22 : 431-444, 1987.
2. Bartold, P.M., Wiebkin, O.W., Thonard, J.C. : Proteoglycans of Human Gingival Epithelium and Connective Tissue. *Biochem. J.*, 211 : 119-127, 1983.
3. Bartold, P.M.: A Biochemical and Immunohistochemical Study of the Proteoglycans of Alveolar Bone. *J. Dent. Res.*, 69 : 7-19, 1990.
4. Bitter, T., Muir, H.M. : A Modified Tjronic Acid Carbazole Reaction. *Anal Biochem.*, 4 : 330-3334, 1962.
5. Browne, R.M. : Some Observations on the Fluids of Odontogenic Cysts. *J. Oral Pathol.*, 5 : 74-87, 1976.
6. Browne, R.M.: The Pathogenesis of Odontogenic Cysts. A Review. *J. Oral Pathol.*, 4 : 31-46, 1975.
7. Browne, R.M.: Metaplasia and Degeneration in Odontogenic Cysts in Man. *J. Oral Pathol.*, 1 : 145, 1972.
8. Last, K.S., Stanbury, J.B., Embery, G.: Glycosaminoglycans in Human Gingival Crevicular Fluid as Indicators of Acüve Periodontal Disease. *Arch. Oral Biol.* 30 : 275-281, 1985.
9. Mancini, G., Carbonasa, A.O., Heremans, J.F.: Immunochemical Quantitation of Antigens by Single Radial Immunodiffusion., *Immunochemistry*, 2 : 235-254, 1965.
10. Rahemtulla, F. : Proteoglycans of Oral Tissues. *Clin. Rev. Oral Biol. Med.*, 3 : 135-162, 1992.
11. Shear. M.: Cysts of the Jaws : Recent Advances. *J. Oral Pathol.*, 14 : 43-59, 1985.
12. Skaug, N. : Intracystic Fluid Pressure in Non-keratinizing Jaw Cysts. *Int. J. Oral Surg.*, 5 : 59, 1967.
13. Skaug, N. : Proteins in Fluid from Non-keratinizing Jaw Cysts. 4. Concentrations of Immunoglobulins (IgG, IgA and IgM) and some Non-immunoglobulin Proteins : Relevance to Concepts of Cyst Wall Permeablity and Clearance of Cystic Proteins. *J. Oral Pathol.*, 3 : 47-61, 1974.
14. Skaug, N.: Proteins in Fluid from Non-keratinizing Jaw Cysts. 3. Identification of Individual Proteins with Particular Reference to - and Globulins Including Fibrinogen. *J. Oral Pathol.*, 2 : 326-340, 1973.
15. Smlth, G., Smith, A.J., Browne, R.M.: Glycosaminoglycans in Fluid Aspirates from Odontogenic Cysts. *J. Oral Pathol.*, 13 : 614-621, 1984.

M. Kemal YAMALIK, Engin BULUT, I. Levent ARAL

16. Stites, D.P., Stobo, J.D., Wells, J.V. : Basic and Clinical Immunology, 6. Ed. Appleton and Lange, Nonvalk Connecticut/Los Altos, California, 1987.
17. Summers, L. : Cavitation of Apical Cysts. J. Dent. Res., 51 : 1247, 1972.
18. Toller, P.A. : Protein Substances in Odontogenic Cysts. Br. Dent. J., 128 : 317, 1970.
19. Toller, P.A., Holborrow, E.J. : Immunoglobulins and Immunoglobulin Containing Cells in Cysts of the Jaw. Lancet, ii : 178-181, 1969.