

49778

T.C  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SAĞLIKLI VE PERİODONTİTİSLİ  
BİREYLERE AİT DİŞETİ DOKUSUNDA VE  
KANDA T LENFOSİT ALT GRUPLARININ  
KARŞILAŞTIRMALI İNCELENMESİ**

Periodontoloji (Dişhekimliği) Programı

DOKTORA TEZİ

Dişhekimi Nurcan GÜRSES

Danışman Öğretim Üyesi  
Doç.Dr.Füsun ÜNLÜ

İZMİR - 1996

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ

KISALTMALAR

GİRİŞ VE AMAÇ ..... 1

1. GENEL BİLGİLER ..... 3

- 1.1. Periodontal hastalıkların etyolojisi
- 1.2. Periodontal hastalıkların sınıflandırması
- 1.3. Periodontal hastalıkların epidemiyolojisi
- 1.4. Periodontal hastalıkların immünopatogenezi
  - 1.4.1. Hücresel immün reaksiyonlar
  - 1.4.2. T lenfositlerin fenotipik özellikleri
  - 1.4.3. T lenfosit farklılaşması
  - 1.4.4. Periodontal dokularda T lenfosit trafiği
  - 1.4.5. Periodontal dokularda T lenfosit fonksiyonları

2. GEREÇ VE YÖNTEM ..... 20

- 2.1. Hasta popülasyonu
- 2.2. Biyopsi
  - 2.2.1. Histopatolojik incelemeler
  - 2.2.2. İmmünohistokimyasal incelemeler
  - 2.2.3. Hücre sayımı
- 2.3. Periferik kan lenfositlerinin analizi
- 2.4. İstatistiksel değerlendirmeler

3. BULGULAR ..... 28

- 3.1 Histopatolojik bulgular
- 3.2 İmmünohistokimyasal bulgular
- 3.3. Periferik kan flow sitometrik analiz bulguları

<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	.....	<b>41</b>
<b>5. ÖZET</b>	.....	<b>50</b>
<b>6. SUMMARY</b>	.....	<b>52</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	.....	<b>54</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b>	.....	<b>64</b>



## ÖNSÖZ

Periodontitis esas olarak, mikrobiyal dental plağın sebep olduğu bir enfeksiyon hastalığı olmakla beraber, patogenezine dair henüz yanıtlanamamış sorular varlığını sürdürmektedir. Son yıllarda özellikle konak direncine ait faktörler üzerinde durulmakta ve immün sistemin, periodontal hastalık üzerine etkileri sebep - sonuç ilişkisi çerçevesinde araştırılmaktadır. Bu arada, oldukça soyut görünen immünoloji kavramları, her geçen gün keşfedilen yeni hücre yapıları, molekülleri ve fonksiyonları ile daha da karmaşık bir hale gelmektedir. Klinikte somut şekilde gözlenen olayların perde arkasındaki kısmı ile ilgilenmek zor hatta kimi zaman sıkıntılı ve sevimsiz görülebilmektedir. Böylesi bir caydırıcılığa rağmen, kaynak insanoğlunun bitmek bilmeyen merakı ve hedef de yaşam kalitesinin artırılması oldukça, her hastalık sürecinde yadsınamayacak bir etken olan, immünolojinin harcanan bu emek, zaman ve masrafı hakettiğine inanıyorum. Dentisyonun konuşma, çiğneme ve estetik fonksiyonlarının sürdürülebilmesi için periodontal sağlığın önemi ve bu fonksiyonların bireysel mutluluğa katkısı düşünüldüğünde, periodontolojinin immünoloji bilgilerinden yoksun bırakılması kabul edilemez.

Bu zor fakat keyifli çalışma süresince, bilimsel tecrübesini ve desteğini, esirgemeyen doktora yöneticim , Sayın Doç.Dr.Fusun Ünlü'ye içtenlikle teşekkür ederim. Histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemelerde büyük emeği geçen, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Sayın Yard. Doç.Dr.Mine Hekimgil'e ve flow sitometrik analizlerin yapılabilmesini sağlayan, immünoloji penceresini çok iyi kullandığına inandığım, Doku Tipi Laboratuvarı şefi Sayın Uzm.Dr.Ahmet Keskinolu'na şükranlarımı sunarım. İstatistiksel analiz ve değerlendirmeleri yapan, Ege Üniversitesi Bilgisayar Mühendisliğinde görevli Sayın Uzman Timur Köse'ye yardımları için teşekkür ederim.

Araştırmamın gerçekleştirilebilmesi için gerekli maddi kaynağı sağlayan, Ege Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı'na desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

Varlıkları ile bana her zaman sevgi ve güç veren aileme de şükran borçluyum...

Dt. Nurcan GÜRSES

## KISALTMALAR

LJP	Lokalise juvenil periodontitis
A.a.	Actinobacillus actinomycetemcomitans
MHC	Major Histocompatibility Complex
CD	Cluster of Differentiation
TCR	T cell receptor
kD	kilo Dalton
APC	Antigen presenting cell
IL-2	Interlökin 2
HLA	Human leukocyte antigen
LCA	Leukocyte common antigen
TBS	Tris buffered saline
PBS	Phosphate buffered saline
APAAP	Alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit

## GİRİŞ VE AMAÇ

Periodontitis; esas olarak mikrobiyal dental plağın sebep olduğu bir enfeksiyon hastalığıdır. İnsan vücudundaki en karmaşık floralardan biri olan ağız mikroflorası 300'den fazla bakteri türünü içerir. Bakteriler ve bakterilerin metabolik ürünlerinden oluşan virülans faktörleri, yıkıcı enflamatuvar yanıtın başlamasına ve ilerlemesine neden olurlar. Sağlıklı halde, patojenik mikroorganizmalar ile konak savunma sistemi arasında bir denge mevcuttur. Bu dengenin, konak direncindeki veya virülans faktörlerindeki değişiklikler aracılığıyla mikroorganizmalar lehine bozulması halinde ise hastalık ortaya çıkar.

Başlama yaşı, doku yıkımının ilerleme hızı ve klinik görünümdeki farklılıklar nedeniyle periodontitis; erişkin ve erken yerleşen tip olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Bu iki periodontitis tipi, ilgili patojen mikroorganizmalar ve konak savunma sistemindeki defektler yönünden de farklılık göstermektedir (107).

1980'lerde periodontal hastalıkların doğası, ve doğal seyrine ait görüşlerde önemli değişiklikler meydana gelmiş ve dişhekimi pratiğini etkilemiştir. Daha önceleri Papillon-Lefevre gibi bazı sendromlarla ya da hipofosfatazi, lösemi gibi ciddi sistemik hastalıklarla ilişkili olanlar dışında kalan "*kronik enflamatuvar periodontitis*" yavaş ama devamlı ilerleyen ve toplumdaki bireylerin hemen hemen tamamını etkileyen bir hastalık olarak kabul ediliyordu. Bu arada, Gram negatif ve nispeten anaerobik mikroorganizmaların çoğunlukta olduğu dental plak, başlıca etyolojik ajan ve dolayısıyla başlıca risk faktörü olarak düşünülmekteydi. 1980'lerde yapılan araştırmalar, on yıldan kısa bir zaman aralığında 1960'lardan beri devam etmekte olan ve kesin gözüyle bakılan bu görüşleri sarsmıştır. Bugün için yaygın olarak kabul edilen yeni yaklaşımlar şu şekilde özetlenebilir;

1. Periodontal doku yıkımı episodik özellik taşır. Kısa aktif yıkım dönemlerini, uzun pasif tamir dönemleri izler.

2. Toplumların birçoğunda periodontal yıkım, toplumun sanılandan küçük bir grubunu etkilemekte ve risk gruplarının varlığını düşündürmektedir.

3. Hem etyolojik ajanlar hem de konak direncindeki farklılıklar klinikte farklı periodontal hastalıklarla karşılaşılmasına neden olmaktadır. Etiyolojiyi açıklayan nonspesifik ve spesifik plak hipotezlerinden sonra "*ekolojik plak hipotezi*" ağırlık kazanmaktadır.

Plak bakterileri veya ürünlerinin etkisiyle harekete geçen ve temelde organizmayı mikrobiyal saldırılara karşı korumaya yönelik olan konak savunma sistemi lokal doku yıkımıyla sonuçlanan olaylar zincirini başlatır (115, 116). Enflamasyon ve immünite konak dokuları üzerinde hem koruyucu hem de yıkıcı

etkide bulunabilmektedir. Spesifik bakteriyel antijenleri tanıyan ve aktive olan T lenfositler, lenfokinleri salgılayarak bazı T hücre altgruplarının, B lenfositlerin, makroraj ve granüositlerin fonksiyonlarını yönlendirir. İmmünohistolojik çalışmalar ileri periodontitis lezyonlarında B lenfositlerin ve plazma hücrelerinin çoğunlukta olduğunu göstermiştir. Bununla beraber, lokal antikor sentezinin kontrolünde öncelikle T lenfositlerin etkili olduğu düşünülmektedir. T4/T8 ile ifade edilen yardımcı T lenfositlerin / baskılayıcı T lenfositlere oranı immün yanıtın karakterini belirleyen bir indeks olarak kabul edilmektedir.

Farklı periodontitis tiplerinde, T lenfositlerin B lenfositler üzerindeki kontrolünün ne derece aktif olduğu ve yardımcı, baskılayıcı T lenfositler arasındaki lokal dengenin periodontal hastalığın patogeneziindeki önemi ise tam olarak açıklığa kavuşmamıştır.

Bu çalışmanın amacı; aralarında başlama yaşı, klinik seyir ve ilerleme hızı gibi önemli farklılıklar bulunan erişkin periodontitis ve erken yerleşen periodontitis hastalarına ait dişeti ve periferik kan lenfosit altgruplarının fenotipik analizinin yapılması ve elde edilen sonuçların sağlıklı bireylerle karşılaştırılmasıdır. Böylece, periodontitisteki immünregülasyonun doğası ve farklı periodontitis tipleri arasında immünregülasyon yönünden fark olup olmadığı sorularına yanıt aranması düşünülmüştür.

# 1.GENEL BİLGİLER

## 1.1. PERİODONTAL HASTALIKLARIN ETYOLOJİSİ

Kronik hastalıklar, konak organizma ile çevresel faktörler arasındaki uzun süreli etkileşimlerin sonucunda ortaya çıkar. Yaşlanma, çevre ve genetik faktörlerle başlatılan hücresel fonksiyon bozuklukları kronik hastalıkların etyolojisinde spesifik nedenlerden daha önemli rol oynarlar (26). Kronik seyirli bir hastalık olan periodontitis; esas olarak mikrobiyal dental plağın sebep olduğu bir enfeksiyon hastalığıdır. Plak bakterilerine ait virülans faktörleri, doku yıkımıyla sonuçlanan enflamatuar yanıtın başlamasına ve ilerleyerek sürmesine neden olurlar (6, 36, 68, 69).

Periodontitis etyolojisinde, bakteriler, bakterilerin çoğalmasını kolaylaştıran lokal faktörler ve sistemik bozukluklar yüzyılı aşkın bir zamandır tartışılmaktadır. Ağız mikroflorası insan vücudunun en karmaşık floralarından birini oluşturur ve yaklaşık 300 bakteri türünü barındırır (71, 72). Sağlıklı halde bu bakteriler ile konak savunma sistemi arasında bir denge söz konusudur. Ancak bu dengenin, virülans faktörleri ve/veya konak savunma sistemindeki değişikliklerle bakteriler lehine bozulması sonucunda hastalık ortaya çıkar (125). Ağız boşluğunda yaşayan ve dişler üzerinde kolonize olan bakterilerin periodontal hastalık etyolojisinde etkili olduğu uzun yıllardır bilinmekle beraber, sorumlu bakterilerle ilgili tartışmalar devam etmektedir. Dental plağın periodontal hastalıkla ilişkili olduğu, 1960 ların sonunda genel olarak kabul edilmişti. Ancak plak içeriğinin ağızdaki çeşitli bölgelerde, hatta farklı hastalarda benzerlik gösterdiği düşünülmekteydi. Buna göre, bakteriyel plak kütlesindeki artış yıkıcı periodontal hastalığı başlatıyordu. Nonspesifik plak hipotezinin hakim olduğu dönemde periodontal hastalık; kötü ağız hijyeniyle ilişkili olarak gingivitis ile başlayan, 35-40 yaşın üzerindeki erişkin toplumun çoğunluğunu etkileyen ve yaşla birlikte daha kötüye giden, dental plağa bağımlı bir hastalık olarak tanımlanmaktaydı (146). Gingivitisin birkez başladıktan sonra, tedavi edilmediği takdirde yavaş fakat kaçınılmaz şekilde ilerleyerek yıkıcı karakter kazandığı düşünülüyordu. Bir bölgedeki yıllık ataşman kaybı miktarı ise 0.1- 0.2mm olarak hesaplanmıştı (73, 146). Loe ve arkadaşlarının bu yıllarda gerçekleştirdikleri klasikleşmiş çalışmalar (74, 76, 138) plak birikiminin gingivitisini başlattığı ve müdahale edilmediği takdirde gingivitisin periodontitise ilerlediği



sonuçlarını ortaya koymuştur. Fakat, bu nonspesifik plak hipotezinin açıklayamadığı konular vardır. Farklı bölgelerdeki plak içeriği benzerlik gösterdiğine ve benzer bir sistemik cevaba neden olduğuna göre, periodontal yıkım neden lokalize olmaktadır? Plak kütlesi esas olduğuna göre, plak birikiminin fazla olduğu bazı bireylerde gingivitis görülürken, periodontitis neden oluşmamaktadır? Diğer yandan, plak miktarı ve enflamasyonun klinik bulgularının az olduğu bazı bireylerde neden hızlı ve ileri periodontal doku harabiyeti görülmektedir? Doku yıkımında esas olan enflamasyon ise, uzun yıllar süren gingivitise rağmen neden birçok diş ağızda kalabilmektedir? Bu sorulardan bir kısmının cevapları daha sonraki mikrobiyolojik araştırmalarla çözülmeye çalışılmış ve periodontal hastalık etyolojisinde plak yapısının ve içeriğinin önemli olduğu görüşü ile birlikte spesifik plak hipotezi ortaya çıkmıştır.

Araştırma tekniklerindeki gelişmelerle birlikte, 1975'ten itibaren özellikle lokalize juvenil periodontitis (LJP) ile ilgili bakteri türlerinin tanımlanması periodontal hastalık etyolojisinde spesifik bakterilerin rolü üzerinde yoğunlaşılmasına sebep olmuştur.

Dişeti oluşunda kolonize olabilen 250 - 300 bakteri türünden belki de sadece 20 kadarı periodontal hastalık etyolojisinde rol oynamaktadır (48, 77, 84).

Enfeksiyon hastalıklarında etyolojik ajanın belirlenmesi Koch (17) tarafından öne sürülen bazı şartların yerine getirilmesine bağlıdır.

1. Ajan hastalık olgularının tümünden elde edilebilmelidir.

2. Diğer hastalık olgularından veya sağlıklı bireylerden elde edilmemelidir.

3. Patojenin saf kültürü elde edildikten sonra, deneysel olarak hayvanlarda hastalık oluşturulabilmelidir.

Spesifik plak hipotezi, bu şartların tümünü yerine getirmemekle birlikte, belirli bakteri türlerini içeren plağın patojen olduğunu ileri sürer. Bu hipoteze göre; konak ve çevresel faktörlerden etkilenen özel plak ekosistemleri ve bakteri türleri vardır (77).

LJP'de başlıca etken patojen olduğu kabul edilen *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (A.a) sağlıklı bölgelerden ve sağlıklı bireylerden de elde edilebilmektedir. Hayvan deneylerinde saf kültürlerin inokülasyonu ile periodontitis oluşturulamamıştır (24). Üstelik A.a. tüm LJP olgularından elde edilememektedir (47, 49). Spesifik plak hipotezi de bu gibi nedenlerle periodontal hastalık etyolojisini açıklamakta tek başına yeterli olamamaktadır.

Yıllarca, diş çürüklerinin ve periodontal hastalıkların plak hacmindeki nonspesifik artıştan mı kaynaklandığı, yoksa dışardan plağa sızan spesifik bakterilerce mi oluşturulduğu tartışıldıktan sonra, Marsh ve Bradshaw (80,81) "Ekolojik plak hipotezi" ni ortaya atmışlardır. Buna göre; redoks potansiyeli, pH ve besin kaynakları gibi lokal çevre faktörlerindeki sapmalar mevcut plakta sınırlı

sayıda bulunan potansiyel patojenlerin çoğalmasına ve konak dokularına zarar verebilen virülans faktörlerinin ortaya çıkmasına sebep olur.

Hormonal dengesizlik, beslenme faktörleri, sinir sistemine ait etkiler ve genel sağlık durumunu bozan bazı hastalıkların konak-parazit ilişkilerini etkileyerek hastalık oluşmasına yol açabileceği ileri sürülmüştür (141).

Burt (15) ise; periodontal hastalık oluşmasında bir etken ajan varlığından ve konağa ait faktörler ile çevresel faktörlerin buna katılımından söz etmektedir. Burada etken ajan; başlıca Gram negatif bakteriler iken, konağa ait faktörler ise; kötü ağız hijyeni, immün yanıtın niteliği ve çeşitli sosyal faktörlerdir. Bu arada, sigara, travmatik oklüzyon, bakteriler ve bakteri birikimini kolaylaştıran mekanik faktörler çevreye ait bileşenler olarak sunulmaktadır. Ancak bu modelde ajan faktörü hem konak hem de çevre faktörleriyle içiçe geçmiş ve karışmıştır.

Bir başka model, Socransky ve Haffajee (123) tarafından ileri sürülmüştür ve iki grup virülans faktörünün periodontitis oluşumunda rol oynadığını ifade eder. Birinci grup, bakterilerin kolonize olmalarına imkan tanırken, bir diğer grup özellik; bazı bakteri türlerinin doku hasarına yol açmasına olanak sağlar. Bu modelde kronik hastalığın başlamasında konağın rolü tamamen gözardı edilmektedir.

Seymour (113) ise; genetiği ön plana çıkararak toplumdaki bireyleri hastalığa yatkın olanlar ve olmayanlar şeklinde iki gruba ayırmıştır. Bu görüşe göre; konak-parazit arasındaki dengenin dışardan gelen eksojen bir bakteri türünün çoğalması ya da mevcut endojen bakterilere karşı konak yatkınlığının artması sonucunda bozulması periodontal hastalık oluşumuna yol açabilir. Burada yatkın olarak kabul edilen bireyler genel toplumun küçük bir bölümünü oluşturmaktadır.

Daha sonra Socransky ve Haffajee (124) periodontopatojenlerin hastalık oluşması için gerekli olduğunu ancak yeterli olmadığını ifade ederek konağı yatkın kılan faktörlerin de önemini vurgulamışlardır. Fakat konağa ait yatkınlık faktörleri daha henüz belirginleştirilememiştir.

Bu arada Hansen ve arkadaşları (50); konak-parazit arasındaki dengeyi bozan sosyo-ekolojik faktörlerden söz etmektedir. Sağlık kurumlarının ve uygulanan çeşitli tedavilerin etkileri yanında biyolojik, davranışsal ve çevresel bazı değişkenler bu dengeyi etkileyerek pasif durumdaki kommensal bakterilerin konağa karşı saldırıya geçmesine yol açabilir. Hastalığın başlamasında psikososyal etkilere dikkat çeken bu model iç ve dış risk faktörlerinin konak-parazit ilişkisini kontrol etme kapasitesini vurgulamaktadır.

Kronik seyreden hastalıklar, genellikle bir tek sebebe bağlanamaz; çeşitli ve karmaşık faktörler arasında uzun süre devam eden etkileşimlerin sonucunda ortaya çıkarlar. Periodontitis de bu anlamda multifaktöriyel, kronik hastalık

çerçevesine uymaktadır (32). Periodontal hastalıkların bir çoğunun, bakteriler tarafından oluşturulduğu artık şüphe duyulmayan bir gerçek olmakla birlikte (111, 147) hastalığın başlamasında ve ilerlemesinde, konağa ait faktörler de çeşitli derecelerde etkili olmaktadır (111). Periodontal dokuların yıkımına sebep olan bakteriler dışarıdan gelerek ağız boşluğunu istila eden yabancı patojenler değil, sağlıklı halde de bulunan, ancak subgingival bölgede kolonize olduğunda hastalığa yol açan normal ağız mikroflorasının üyeleridir (139). Enflamatuar periodontal hastalıklar, normal florada bulunan bakterilerin işbirliği sonucunda ve belirli bakteri türlerine ait spesifik virülans faktörlerinin etkisiyle oluşur. Patojen bakterilerin varlığı hastalık aktivitesinin oluşması için gereklidir , ancak yeterli değildir. Konak organizmanın yani bireyin bu patojenlere karşı yatkın olması ve lokal çevre faktörlerinin de hastalıkta etkili olan yerleşik patojenlerin virülans faktörlerinin aktivitesine olanak sağlaması gerekir (124). Newman (86) hastalık aktivitesinin, konak cevabındaki değişkenler tarafından belirlendiğini ve plağın, kronik enflamatuar periodontal hastalığıdaki rolünü açıklayan katı hipotezlere artık gereksinim olmadığını ileri sürmektedir. Üstelik spesifik, nonspesifik plak hipotezi tartışmaları, daha çok akademik seviye ile sınırlı kalmaktadır. Çünkü, kronik enflamatuar periodontitis tedavisinde başarı bugün hala mekanik temizliğe, subgingival plak eliminasyonuna ve yaşam boyu günlük plak kontrolünün iyi yapılmasına bağlıdır (139).

Periodontal dokularda, minimal hasar ve hızlı tamir ile korunan sağlıklı durumla, yıkımın çok ve rejenerasyonun ise minimal olması sonucu ortaya çıkan hastalık hali arasında dinamik bir denge söz konusudur (121). Bu denge, lokal veya sistemik değişikliklerden etkilenir. Bu nedenlerle de periodontal hastalık etyopatogenezinin anlaşılabilmesi için, mikrobiyal faktörler yanında, konak organizmaya ait faktörlerin de incelenmesi gerekmektedir. Konak organizmanın mikrobiyal saldırılara gösterdiği nonspesifik ve spesifik immün yanıt bu faktörlerin başında gelir.

## **1.2. PERİODONTAL HASTALIKLARIN SINIFLANDIRMASI:**

Periodontal hastalık, dişleri çevreleyen ve destekleyen dokuları ilgilendiren hastalıklar grubu olarak tanımlanmaktadır. Yaklaşık dörtbin yıl önce, Mısırlılar ve Çinliler periodontal hastalıkları iltihabi durumlar olarak tanımlamışlar, Hipokrat ise dişetlerinin kızarmasının ve kanamasının nedenlerini ve patogenezinin aydınlatmaya çalışmıştır.

Periodontal hastalıkların sınıflandırılmasında, karşılaşılan problemlerin başında farklı hastalıklara ait bulguların birbiriyle çakışması ve etyolojideki benzerlikler gelmektedir. Ancak yatkinlığa sebep olan konağa ait faktörler, başlama yaşı, ilerleme şekli ve hızı yönünden belirgin farklılıklar bulunmaktadır. Genco (43) periodontal hastalıkları olası etyolojik ajanlar ve konak yatkinlik faktörlerine dayanarak sınıflandırırken, Johnson ve arkadaşları (58) klinik bulguları esas almıştır. 1994 Avrupa Periodontoloji Toplantısında yapılan sınıflandırmaya göre periodontal hastalıklar, gingivitis ve periodontitis olarak iki ana gruba ayrılmıştır. Periodontitiste enflamasyon gingivitisten farklı olarak dişeti altındaki yapılara da uzanır ve dişin bağ dokusu ataşmanında kayıpla sonuçlanır. Periodontitis başlığı altında, şu üç hastalık tipi tanımlanmıştır:

1. Erken Yerleşen Periodontitis
2. Erişkin Periodontitis
3. Nekrotizan Periodontitis

Hastalığın başlama yaşını öncelikli olarak ele alan bu sınıflandırmanın yanısıra ağızdaki dağılımı, periodontal yıkımın geçmişi, ilerleme hızı, hastanın etnik kökeni ve genetik özellikleri, belirli patojenlerin varlığı, konak direncine ait sistemik defektler, lokal predispozan faktörler, ilaç etkileşimleri ve tedaviye alınan cevabın da sekonder tanımlayıcılar olarak göz önüne alınması önerilmektedir.

Bu çalışmanın kapsamına test grupları olarak erken yerleşen ve erişkin periodontitis hastaları alınmıştır. Bu nedenle çalışmanın temel prensiplerine geçmeden önce, bu iki periodontitis tipinin, özelliklerinden kısaca bahsetmeyi uygun gördük.

### **1.2.1. Erken Yerleşen Periodontitis:**

Amerikan Periodontoloji Akademisi erken yerleşen periodontitisi, prepubertal, juvenil ve hızlı ilerleyen periodontitis olmak üzere üç gruba ayırmıştır (28).

Lokalize juvenil periodontitis (LJP); puberte döneminde yani 11-13 yaşlarında başlar. Karakteristik olarak birinci molar ve/veya kesici dişlerin mezyal yüzlerinde açılı ve ileri alveoler kemik kayıplarına yol açar. Mevcut plak miktarına göre beklenmeyecek derecede ileri ataşman kaybı görülür (109). Birinci molar ve kesici dişler dışında, bir iki dişte daha benzer periodontitis lezyonu bulunabilir (14).

Klinik ve radyolojik bulgular yönünden Juvenil periodontitise benzerlik gösteren ancak, daha ileri yaşlarda (26-35 yaş) ortaya çıkan hastalık tipi postjuvenil periodontitis olarak tanımlanmıştır (130). Bu hastalığın ilerleme hızı juvenil periodontitisten daha yavaştır.

Hızlı ilerleyen periodontitisin başlama yaşı ise; puberte ile 35 yaş arasındadır (94). Hastaların yaklaşık olarak %83'ünün nötrofil veya monositlerinde fonksiyon defekti bulunur. Mikrobiyal plak miktarı oldukça büyük değişkenlik gösterir ve ataşman kaybı ile orantılı da olabilir. Dişlerin bir çoğu hastalıktan etkilenmiştir ve hızlı doku yıkım dönemlerini pasif tamir dönemleri izler. Aktif dönemde dişetleri ileri derecede enflamasyonlu iken, pasif dönemde belirgin enflamasyon bulgusu yoktur (34). Bu jeneralize formun kökeninde immünolojik bozuklukların rolü olabileceği de bildirilmiştir (100).

Ranney'in (99) 1993'te yaptığı sınıflandırmaya göre ise, erken yerleşen periodontitis, lokalize ve jeneralize olmak üzere iki grupta incelenmektedir. Burada lokalize form; birinci molar ve/veya kesici dişlerde yıkımı anlatırken jeneralize form; yirmi veya daha fazla dişi ilgilendiren ileri periodontal doku yıkımını ifade etmekte ve hızlı ilerleyen periodontitis ile çakışmaktadır. Bu arada lokalize formun zamanla jeneralize forma ilerleyeceği öne sürülürken, bazı olguların başlangıçta jeneralize olabileceği belirtilmektedir (4, 14, 108). Lokalize ve jeneralize formların, tamamen ya da kısmen aynı etyolojiyi paylaşabileceği düşünülmekte ve bu nedenle, hastalığın şiddet ve yaygınlığının karma bir enfeksiyona karşı konak direncinin etkinliğine bağlı olabileceği bildirilmektedir.

### **1.2.2. Erişkin Periodontitis:**

En yaygın form olan erişkin periodontitiste, klinik bulgular genellikle 30 yaşından sonra belirginleşir (72). Kökeninde sistemik bir bozukluk yer almaz. Gingivitis takip ederek ortaya çıkar, fakat her gingivitis periodontitise ilerlemez. Erişkin periodontitisin ilerleme hızı, erken başlayan periodontitise göre yavaştır. Önceleri hastalığın yavaş fakat sürekli ilerlediği, yıllık ataşman kaybı miktarının ise, 0.1-0.2 mm. olduğu ileri sürülmüştür (146). Goodson ve arkadaşları (43, 122) bu hipoteze karşı haftalar veya aylar süren alevlenme (aktivite) ve sönme (inaktivite) dönemlerinin birbirini izlediği dinamik bir model önermişlerdir. Yang (150) ise, bu dinamik modeli, single-burst (çalışma dönemi içinde bir tek alevlenme görülmesi) olarak yeniden tanımlamış ve senkronize olmayan multiple-burst

(çalışma dönemi içinde birden fazla alevlenme) modelini eklemiştir. Aslında, erişkin periodontitis için en uygun ilerleme modelinin hangisi olduğu kesinlik kazanmamıştır. Alevlenme ve sönme dönemlerinin birbirini izlediği episodik model daha fazla benimsenmekle birlikte henüz kanıtlanamamıştır (25). Bu konuda, daha fazla bireyi kapsayan daha uzun süreli çalışmalara gereksinim vardır.

### **1.3. PERİODONTAL HASTALIKLARIN EPİDEMİYOLOJİSİ:**

Epidemiyoloji; toplumlarda sağlık, hastalık ve mortalitenin, dağılım ve oluşumunu etkileyen faktörleri incelemeye yönelik bilim dalıdır (10). Bu faktörlerin başında; kalıtım, fiziksel çevre, sosyal çevre ve yaşam tarzı gelir. Bir hastalık veya durumun, epidemiyolojisi, o hastalığın prevalansını ve insidansını kapsar. Prevalans; belirli bir toplumda ve belirli bir zaman aralığında, o hastalığın görüldüğü bireylerin oranı şeklinde tanımlanırken, insidans belirli bir zaman diliminde ortaya çıkması beklenen yeni hastalık olgularının oranını ifade eder.

Periodontitis prevalansı ile ilgili bilgiler, bireyleri hastalık oluşumu yönünden risk grubuna sokan faktörlerin tanımlanabilmesi ve bu sayede koruyucu amaçlı önlemlerin alınması yanında, doğru tedavi yöntemlerinin de belirlenebilmesi açısından önem taşır.

#### **1.3.1. Erken Yerleşen Periodontitis Prevalansı:**

Çocuklarda ve gençlerde görülen periodontal hastalıkların prevalansını araştırmaya yönelik ilk çalışmalar 1950' de başlatılmıştır. Bugüne dek bildirilen sonuçlar %0.06'dan (7) %89,2'ye (148) kadar varan değişiklikler göstermektedir. Prevalans ile ilgili bu geniş varyansın ortaya çıkmasında; kullanılan tanı kriterleri, klinik ölçüm yöntemleri, hedef toplum, değerlendirmeye alınan bireylerin yaşı ve örnekleme yöntemindeki farklılıklar gibi faktörler yol açmış olabilir. Standardizasyonu yüksek çalışmalara dayanılarak, prepubertal periodontitis prevalansının, %1 den az olduğu sonucuna varılırken, lokalize juvenil periodontitis görülme oranı %0.1-0.2 olarak kabul edilmekte (51, 52, 110, 143) ve jeneralize juvenil periodontitisin ise daha da az görüldüğü düşünülmektedir. Bu sonuçlar genel anlamda sağlıklı bireyleri kapsarken bazı toplumlardaki çocuk ve gençlerde,

daha yüksek oranlarda periodontitis görülebileceği ve etnik kökenin, bu açıdan önemli bir belirleyici olabileceği ileri sürülmektedir (95).

### 1.3.2. Erişkin Periodontitis Prevalansı:

Son 10-15 yıl içerisinde periodontal hastalıklarla ilgili anlayış büyük ölçüde değişmiştir. Bu döneme kadar doğruluğuna kesin gözü ile bakılan bazı görüşlerin yerini yenileri almış ve periodontal hastalıklar, tanımlanmasından etyolojisine, ilerleme tarzından epidemiyolojisine ve hatta tedavisine kadar yeni bir çerçeve içine oturmuştur. Periodontal hastalık tek bir tane olmayıp bir hastalık grubunun genel adıdır. Etiyolojide bireysel yatkınlıkların hemen hemen mikrobiyal faktörler kadar önemli rol oynadığı düşünülmektedir (92). Periodontitisin dentisyonun tümünü ilgilendiren yaygın bir hastalık olmayıp alana özgünlük gösterdiği ve doğrusal şekilde sürekli değil, ataklar halinde, kesintili olarak ilerlediği görüşü ağırlık kazanmaktadır (44, 101).

Köklü anlayış değişikliklerinin olduğu bu döneme kadar, diş hekimleri diş çekimini normal bir tedavi şekli olarak kabul ediyordu. Çürük veya piyore tedavisinde, diş çekiminin bilimsel kökeni, Hunter'ın 1911 yılında ortaya attığı "*Fokal Enfeksiyon Teoris*"ne dayandırılmıştı. 1960 lı yıllarda kabul edilen periodontal hastalık modeline göre, gingivitisin periodontitise ilerleyerek, destek kemik ve buna bağlı olarak diş kaybı ile sonuçlanacağı, periodontitis riskinin toplum genelini tehdit ettiği, periodontitis şiddetinin yaşla birlikte arttığı ve 35 yaş sonrasında diş kaybının birinci sebebinin periodontal hastalık olduğu kabul ediliyordu. Bu model tedavi edilmeyen gingivitisin periodontitise ilerlemesinin ve tedavi edilmeyen periodontitisin de diş kaybı ile sonuçlanmasının kaçınılmaz olduğunu ileri sürüyordu.

Periodontitis prevalansı ile ilgili ilk epidemiyolojik çalışmanın, 1918 yılında, Black tarafından yapılmasından bu yana gerçekleştirilen çok sayıda araştırma, periodontal hastalık doğasının, etyolojisinin ve dağılımının, daha iyi anlaşılmasına yardımcı olmuştur.

Periodontal hastalıkla ilgili 1980 öncesinde yapılmış olan epidemiyolojik araştırmalar, gözle incelemeye, standart olmayan radyografilere ya da bugün geçerli olmayan indekslere dayanmaları nedeni ile şüpheli karşılanmakta ve sadece tarihsel gelişim açısından değerlendirilmektedirler (16).

Brown ve arkadaşlarının (12) 1981 yılında, en az 1 mezyal alanda minimum 4mm.lik cep bulunması koşuluna dayanarak yaptıkları araştırmada, Amerikan erişkin toplumundaki periodontitis prevalansının %36 olduğu ve yaşla birlikte bu oranın arttığı gösterilmiştir. Yine, Brown ve arkadaşlarının (11) yürüttükleri, 1985 - 1986 yıllarını kapsayan bir başka çalışma, periodontal hastalık tanımlamasının, epidemiyolojik araştırma sonuçlarını ne denli etkileyebileceğini ortaya koymuştur. Tüm bireylerin %99 unda en az bir alanda, 1 mm ve daha fazla ataşman kaybı görülürken, 5mm ve daha fazla ataşman kaybı gösteren birey oranı sadece %13 tür. Farklı yaş grupları ele alındığında, artan yaş ile birlikte ataşman kaybı görülme oranı da artmaktadır. Ancak yine de 55-65 yaş grubunda, 5mm ve daha fazla ataşman kaybı görülen birey oranı %35 de kalmaktadır. 1985 sonrasında yapılan çeşitli epidemiyolojik araştırmalardan bir kısmı erişkin bireylerde , en az 1 tane 6mm veya daha derin cep varlığı ile tanımlanan ileri periodontitis prevalansının %1,1 - 15 arasında değiştiğini göstermiştir (5, 31, 39, 98). Toplumun geri kalan % 85-95'lik bölümünün ise mikrobiyal plak kaynaklı virülans faktörlerine gingivitis ya da diş kaybına yol açmayan hafif periodontitis tablosu ile yanıt verdiği ortaya konmuştur. Başka bazı araştırmacılar ilerleyici tarzdaki periodontitisin %50-81 oranında bulunduğunu ileri sürmüşlerdir (30, 73).

Sonuç olarak, erişkin bireylerde ileri periodontal hastalığın, önceden tahmin edildiği kadar yaygın olmayıp ancak küçük bir grubu etkilediği (%7-15), yaşla birlikte artmasına rağmen yaşlanmanın doğal bir sonucu olmadığı, iyi bir ağız hijyeni ile dentisyonun devamlılığının sağlanabileceği ve bazı toplumlardaki en yaşlı bireyler dışında diş kaybının başlıca nedeninin periodontitis olmadığı söylenebilir (10, 97). Bununla birlikte, bazı ülkelerde ve toplumun bazı gruplarında, periodontitis prevalansının yüksek olması bireysel yatkınlığa bağlanabilir. Konak cevabı, etnik köken, kalıtım, beslenme, eğitim gibi sosyo-ekonomik değişkenlerin de bireysel yatkınlığı etkileyebileceği düşünülmektedir. Periodontitis etyopatogenezinin daha iyi anlaşılabilmesi ve bireysel yatkınlığa sebep olan risk faktörlerinin açıklanabilmesi için konak cevabı ve sosyo-ekolojik bileşenlerin araştırılması gerekmektedir.



#### 1.4. PERİODONTAL HASTALIKLARIN İMMÜNO PATOGENEZİ

Dentogingival sahada biriken bakterilerden kaynaklanan mikrobiyal saldırılar hem fagositik hücrelerle yürütülen ve doğal bağışıklığı sağlayan nonspesifik enflamatuar reaksiyonlara hem de sıvısal ve hücre sel immün sistemlerle yürütülen spesifik yanıtı sebep olurlar (36, 53). Zamanla monositlerin yanısıra T ve B lenfositlerin de aktive olması ile devam eden kronik enflamasyon sonucunda bağ dokusunda yıkım ortaya çıkar (41, 62, 65, 70, 96). Periodontal hastalık patogenezinin aydınlatılmasına yönelik çalışmalar, çeyrek asırdan beri konak immün sisteminin rolü üzerinde yoğunlaşmıştır. Bugün gelinen noktada, hücre sel ve moleküler temele dayanan bir patogene z modeli ileri sürülmüş olmakla birlikte (114), periodontitis lezyonlarında etkili olan savunma hücrelerinin fenotipik ve fonksiyonel özellikleri konusunda henüz fikir birliğine varılamamıştır. Shenker'in (118) önerdiği dinamik modele göre ise ilk karşılaşma önemlidir. Bu aşamada immün sistem hızlı ve yeterli yanıt veremezse antijen çoğalmaya fırsat bulacağı gibi gecikmiş hiperaktif immün reaksiyonlar doku yıkımına da sebep olurlar. Bu alanda ilk önemli kilometre taşıını Ivanyi ve Lehner'in (78) 1970 yılında yayınladıkları çalışma oluşturur. Söz konusu araştırmada periodontitisli bireylerden elde edilen periferik kan mononükleer hücrelerinin, etken periodontopatojen bakterilere karşı duyarlanmış olduğu saptanmıştır. 1970 lerde yapılan çalışmalar, T hücreleri ve hücre sel aşırı duyarlılık reaksiyonları üzerinde yoğunlaşmış, 1980 lerde ise B hücreleri ve sıvısal ümmün yanıt başlıca araştırma alanını oluşturmuştur (142). Önceleri, başlangıç lezyonunda T hücrelerinin, ileri lezyonlarda ise B lenfosit ve plazma hücrelerinin hakim olduğu ileri sürülmüştür (69, 112, 115). Daha sonra saf T ya da saf B lezyonu olamayacağı, ancak hücreler arasındaki oranın hastalık evresine ve aktivitesine göre farklılık gösterebileceği bildirilmiştir (114). İmmün sistemin düzenlenmesine ait bir gösterge olarak kabul edilen yardımcı/baskılayıcı T lenfosit (T4/T8) oranı bu bakımdan önemli araştırma konularından biri olmuştur. Bu arada, yardımcı veya baskılayıcı T lenfosit fonksiyonlarındaki sapmalardan kaynaklanabilecek olan otoimmün reaksiyonların da periodontal hastalıkların ortaya çıkmasında rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (3). Enfeksiyona dayalı periodontitiste savunma hücrelerinin fenotipik ve fonksiyonel özellikleri hem periferik kan aracılığıyla

sistemik düzeyde hem de lokal olarak periodontitis lezyonlarında araştırılmıştır. Lezyonlardaki hücreyel infiltratın özelliklerinin belirlenmesi, immün sistemin hangi kolunun aktif olduğu ve bu aktivasyonun koruyucu mu yoksa yıkıcı mı karakter taşıdığı konularına açıklık getirebilir.

#### 1.4.1. Hücreyel İmmün Reaksiyonlar

Hücreyel immün reaksiyonları yönlendiren yardımcı ve baskılayıcı T hücreleri, ancak MHC (Major Histocompatibility Complex) ile kodlanmış hücrelerin proteinlerine bağlı halde bulunan peptid yapıdaki antijenleri tanıyabilir (1, 9, 106, 140). Antijenik uyarıya yanıt olarak yardımcı T hücreleri sitokin adı verilen protein hormonları salgılar ve böylece T hücreleri, B hücreleri ve makrofajların çoğalmaları ve farklılaşmaları uyarılır. Sitokinler, aynı zamanda enflamatuar fagositleri de aktive eder ve spesifik bağışıklık ile nonspesifik bağışıklık arasında köprü kurarlar.

Spesifik bağışıklık hücreleri antijenleri tanır ve bilgileri bellek hücrelerinde saklayarak aynı antijenle sonraki karşılaşmalarda daha hızlı ve şiddetli savunma yapılmasını sağlarlar. Ayrıca, doğal bağışıklık mekanizmalarının aktivasyonunu artırır, antijene doğru yönlendirir ve antijen eliminasyonunu kolaylaştırır. Özgünlük, çeşitlilik, bellek, kendi kendini kontrol edebilme ve kendinden olanla olmayanı ayırt edebilme spesifik immün yanıtın başlıca özellikleridir (1). Özgünlük; "klonal seleksiyon teorisi" ne dayanır. Bu teoriye göre; her bireyde tek bir öncüden gelişen ve ayrı ayrı antijenlere yanıt veren çok sayıda birbirinden farklı lenfosit kolonisi vardır. Yaklaşık  $10^9$  farklı antijenin ayrımının yapılabilmesi ise spesifik immün yanıtın çeşitliliğini oluşturur. Uzun yaşam sürecine sahip bellek hücreleri antijenik bilgiyi saklar. Effektör hücrelerin yaşam süreleri kısadır ve antijen eliminasyonu ile birlikte aktivasyonları sona erer. Lenfositler organizmanın kendisine ait olan yapılara karşı toleranslıdır ve reaksiyon vermezler. Yabancı antijenleri de ancak kendisine ait moleküller aracılığıyla tanıyabilirler.

B lenfositler yüzeylerinde bulunan ve antijen reseptörü olarak görev yapan immüoglobülin molekülleri sayesinde serbest antijenleri tanıyabilirken, T lenfositlerin antijen tanınması ancak antijen tanıtan hücreler aracılığıyla (APC) olur. B lenfositler ve makrofajlar antijeni alıp işledikten sonra T lenfositlere sunan hücrelerdendir. B lenfosit antijeni yardımcı T hücrelerine tanıtır. Bu etkileşim iki yönlüdür ve sonuçta aktive olan yardımcı T hücresi sitokinleri salgılayarak B lenfositlerin çoğalmalarını ve spesifik antikor yapan plazma hücrelerine

dönüşmesine yardım ederler. Aktive olan baskılayıcı T lenfositler ise bir yandan yardımcı T hücrelerinin fonksiyonlarını baskılar, diğer yandan hedef hücreler üzerine doğrudan sitotoksik etki yaparlar. Aktive olan T lenfositler granülosit ve makrofajların faaliyetlerini de kontrol ederler.

Hibridoma tekniğinin geliştirilmesi ve monoklonal antikorların üretilmesinden sonra "yüzey antijeni" veya "marker" olarak adlandırılan hücre yüzey molekülleri aracılığıyla farklı hücre popülasyonlarının ayırt edilmesi mümkün olmuştur (1, 17). Protein yapıdaki bu belirteçler ilk olarak insan lökositleri için sınıflandırılmış ve bir monoklonal antikor demeti tarafından tanındığı için, "Farklılaşma Demeti" (Cluster Of Differentiation, CD) adı altında toplanmıştır. Bu tanımlama önceleri sadece insan lökosit antijenlerini ifade etmek amacıyla kullanılmış zamanla deneysel modellerde kullanılan canlı türleri için de geliştirilen monoklonal antikorlar aracılığı ile keşfedilen yüzey antijenlerinin tümü bu başlıkta birleştirilmiştir. Bu moleküller aracılığıyla bir immün reaksiyona katılan hücreler tanımlanabilir, izole edilebilir ve bireysel olarak hücre analizi yapılabilir. Artık bu yüzey proteinlerinin fenotipik belirteçten ibaret olmayıp, lenfosit fonksiyonları ile de ilişkili oldukları anlaşılmıştır. CD antijenlerinin etkili olduğu iki önemli fonksiyon şunlardır:

1. Hücreler arası etkileşim ve yapışmanın sağlanması
2. Lenfosit aktivasyonuna yol açan sinyallerin hücre içine iletilmesi .

İlk kez 1975 yılında Kohler ve Milstein (17) tarafından geliştirilen bir teknik aracılığıyla spesifik antikor üretimi gerçekleştirilmiştir. Normal antikor üreten B hücreleri ile B lenfositlerin oluşturduğu bir tür lenfoma olan myeloma hücreleri arasında bir hücre kaynaşması veya somatik hücre hibridizasyonu sağlandıktan sonra istenen özgünlükte antikor üreten hücreler seçilir. Bu şekilde elde edilen ve ölümsüzleştirilen hücreler "hibridoma" ve ürettikleri antikorlar da "monoklonal antikor" olarak adlandırılır.

#### 1.4.2. T Lenfositlerin Fenotipik Özellikleri :

Lenfositlerin hücre membranında bulunan yüzey antijenlerinin bir kısmı hücreyi tanımlar ve diğer hücre topluluklarından ayırırken bir kısmı ise hücrenin olgunluk evresini veya aktivasyon durumunu gösterir. Buna bağlı olarak farklı CD antijenleri aynı hücrede bulunabilir. Bunlardan bazıları T lenfositlerde bulunan CD2 ve CD3 antijenleri gibi anahtar, bazıları ise aksesuar moleküllerdir. Fenotipik

hücre analizleri, bu membran proteinlerinin uygun monoklonal antikorlar aracılığıyla belirlenmesine dayanır.

#### **1.4.2.1. CD3+ Lenfositler:**

CD3 yüzey antijeni; her birinin molekül ağırlığı 16-28kD arasında değişen beş farklı polipeptit zincirden oluşur ve T3 antijeni olarak da adlandırılır. Anti CD3 antikorları kan veya lenfoid dokulardan izole edilen periferik T hücrelerinin tamamı ile reaksiyon yapar. Antijen, hücre membranında bulunan T hücre reseptörüne (TCR) bağlandığında aktivasyon sinyali CD3 kompleksi aracılığıyla T hücrenin sitoplazmasına iletilir (1, 106). T hücre reseptörü ve CD3 proteini fonksiyon görebilmek için birbirine bağımlıdır.

#### **1.4.2.2. CD2+ Lenfositler:**

CD2 yüzey antijeni; 45-50kD büyüklüğünde bir glikoproteindir. İmmünoglobülin gen ailesinin üyesi olduğu düşünülmektedir. Hücreler arası adezyon molekülü olarak rol oynar ve yardımcı T hücrelerinin antijen sunan hücrelere, sitotoksik T hücrelerinin ise hedef hücrelere bağlanmasını kolaylaştırır. Diğer moleküller gibi sinyallerin hücre içine iletiminde rol oynar.

#### **1.4.2.3. CD4+T Lenfositler:**

Periferik kan T lenfositlerinin yaklaşık %65' i CD4 yüzey belirteci taşır (9). Bu hücreler fonksiyonel açıdan yardımcı ve uyarıcı etkiye sahiptirler. Yardımcı fonksiyon gören hücreler B lenfositlerin spesifik antikor üretimine yardım eder ve ayrıca bellek hücre grubunu oluşturur. Uyarıcı fonksiyona sahip hücreler ise CD8+ hücrelerin sitotoksik ve baskılayıcı etkilerini uyarır ve naif hücreler olarak adlandırılırlar. T lenfositlere bağımlı olan hücresel immün reaksiyonlarda yardımcı T lenfositler merkezi bir role sahiptirler. Hangi antijenlerin tanınacağını belirleyerek immün yanıtın özgünlüğünü yönlendirirler. Hedef seçilen antijene karşı uygulanacak efektör mekanizmaların seçiminde ve bu hücrelerin çoğalmasında etkili olurlar. Bu arada fagositlerin ve diğer efektör hücrelerin fonksiyonlarını da artırırlar.

#### 1.4.2.3.1. CD4 Molekülünün Yapısı:

Yaklaşık 55kD büyüklüğünde, hem periferik kan T hücrelerinde hem de timositlerde bulunan bir transmembran glikoproteinidir. T4 antijeni olarak da adlandırılan bu yüzey antijeni insanda makrofajlarda ve dolaşımdaki T hücrelerinin 2/3 ünde bulunur. Hücre dışı bölümlerinin yanısıra hidrofobik bir transmembran kısım içerir. CD8 ile aynı kromozomda bulunmakla birlikte CD4 geni CD8 geni ile sıkı bağlantıda değildir.

#### 1.4.2.3.2. CD4 Molekülünün Fonksiyonları:

İmmün reaksiyonlarda iki önemli fonksiyonu olduğu düşünülmektedir. Öncelikle, Sınıf II MHC molekülüne olan eğilimi nedeni ile hücreler arası adezyon molekülü olarak rol oynar. Bu bağlanma sayesinde T hücresi ile ona antijen sunan hücre (APC; Antigen Presenting Cell) arasındaki etkileşim stabilize olur. İkinci olarak da bu bağlantı aracılığı ile, ilgili T hücrelerine sinyal iletimi sağlanır ve buna bağlı fonksiyonel cevaplar alınır. Yardımcı T lenfositlerin büyük çoğunluğu hücre yüzeyinde CD4 molekülü içerir. Bu hücrelerden bir kısmı T ve B hücrelerinin fonksiyonlarını olumlu etkilerken bir kısmı CD8 hücrelerinin baskılayıcı ve sitotoksik fonksiyonlarını uyarır.

#### 1.4.2.4. CD8+ T Lenfositler:

Periferik kan T lenfositlerinin yaklaşık %35'i CD8 glikoproteini taşır. Bunlar baskılayıcı ve sitotoksik T lenfositlerdir. Sitotoksik T hücreleri spesifik antijenleri taşıyan hedef hücrelerini parçalar. Baskılayıcı T lenfositler ise immün yanıt reaksiyonlarının aktivasyonunu engeller. Bu inhibisyon; salgıladıkları inhibitör lenfokinler aracılığıyla T ve B lenfositlerin çoğalmasını engelleyerek, çoğalma ve farklılaşma için gerekli sitokinleri etkisiz hale getirerek veya doğrudan sitotoksik fonksiyonlar ile sağlar.

#### 1.4.2.4.1. CD8 Molekülünün Yapısı:

Bu molekülün yapısı, canlı türüne ve hücrenin olgunluk evresine göre değişir. İnsanda T8 antijeni adı da verilen ve iki polipeptit zincirden oluşan bu yüzey antijeni, 33kD molekül ağırlığına sahiptir.

#### 1.4.2.4.2. CD8 Molekülünün Fonksiyonu:

Sınıf I MHC molekülüne olan eğilimi nedeniyle hücreler arası adezyon molekülü olarak rol oynar. CD8 molekülü taşıyan hücrelerin bir grubu aktivasyon sinyallerini alınca T lenfositlerin esas büyüme faktörü olan interlökin 2 (IL-2) yi salgırlarlar.

#### 1.4.2.5. CD19 + Lenfositler:

CD19 molekülü antikor veya immünoglobülin sentezinden sorumlu olan B lenfositlerde bulunan bir yüzey antijenidir. B lenfositlerin yaşam döngüsü kemik iliğindeki öncü hücrelerle başlar. Sırasıyla pre-B hücresi, olgunlaşmamış B hücresi, olgun B hücresi, aktif B hücresi ve antikor sentezleyebilen plazma hücrelerinde CD19 antijeni bulunur. B lenfositler yüzeylerinde bulunan İmmünoglobülin G (IgG) veya IgM molekülüleri aracılığıyla spesifik olarak antijenleri tanıyabilir ve daha sonra yardımcı T hücrelere tanıtabilir. Antijenle bu temastan sonra B hücresi aktive olur ve efektör hücreye dönüşür .

#### 1.4.2.6. CD25+ T Lenfositler:

CD25 molekülü T lenfositlerin esas büyüme faktörü olan IL-2'nin hücreye bağlanmasını sağlayan yüzey reseptörüdür. Bu reseptörün ekspresyonunda meydana gelen artış T hücre aktivasyonu ile doğru orantılıdır ve aktivasyonun erken dönem belirteçidir. Aktif CD4+ T hücrelerin salgıladığı IL-2 miktarının ölçülmesi immün yanıtın boyutları konusunda önemli bilgi verir.

#### 1.4.2.7. HLA-DR+ T Lenfositler:

Sınıf II MHC moleküllerinden biri olan DR reseptörü plazma membranında bulunur ve hücre aktivasyonundan sonra 10 kat artar (1). Aktivasyonun geç dönem belirteci olan bu molekülün fazla olması yardımcı T hücrelerine antijen tanıtımının yani antijenik uyarının fazla olduğu ve uzun süre devam ettiği anlamını taşır.

#### 1.4.3. T Hücre Farklılaşması :

Lökosit ortak antijeni (Leukocyte common antigen) olarak da adlandırılan CD45 molekülünün, RO ve RA izoformları sırasıyla T hücrelerinin bellek ya da naif

hücre olmasını belirler (1, 106). Yeni doğan kanında sadece naif hücreleri bulunurken, erişkinde kan ve sekonder lenfoit organlarda eşit oranlarda naif ve bellek hücresi bulunur. Tersiyer lenfoit organlardaki hücre içeriğinin ise büyük ölçüde bellek hücresi olduğu ileri sürülmektedir. Periodontal dokular da tersiyer lenfoit organ olarak kabul edilebilir. Periodontal hastalıklı dokularda, CD45RA+ hücreler sadece %10 civarında bulunmaktadır .

#### **1.4.4. Periodontal Dokularda T Lenfosit Trafiği:**

Lenfositlerin dokuya göçünde ilk basamak vasküler endotele bağlanmalarıdır. Bu olay, efektör lenfositler ve hedef dokuya ait endotel hücrelerindeki yüzey reseptörlerinde farklılaşma ile yönlendirilir. Hücreler ancak dokuya geçtikten sonra, antijen veya sitokinlerce yönlendirilen olaylar gerçekleşebilir. Vasküler endotele bağlanan hücreler daha sonra, endotel hücre aralıklarından damar dışına çıkarlar. Bu göçün amacı, antijenlerle onları tanıyan lenfositlerin temas edebilmesini sağlamaktır. Karmaşık bir olay olan hücre göçü sadece hücre tipine değil, hücrenin farklılaşma ve aktivasyon evresine de bağlıdır. Üstelik damar endotelinin vücudun farklı bölümlerinde değişiklik göstermesi de hücre göçünü etkiler.

#### **1.4.5. Periodontal Dokularda T Lenfosit Fonksiyonları :**

Dolaşımdan dokuya geçmiş olan hücrelerin burada kalmaları öncelikle özgün antijen varlığına bağlıdır. Antijen uyarımı sonucunda, adezyon sistemleri aktive olur ve lökositlerin lokal bir doku alanında kalmalarını sağlar. Böylece bakteri antijenlerine karşı, spesifik T lenfositler, spesifik enfeksiyon alanında kalabilir ve enflame dişetindeki ileri immün reaksiyonları düzenleyebilirler.

Enflamasyonun genel kuralına uygun olarak dişetinde de alana ilk göç eden polimorf nüveli lökositlerin, antijen eliminasyonunu sağlayamaması halinde lenfositler de damar dışına çıkarak periodontal dokularda görülmeye başlar. Periodontitis dentogingival dokularda yoğun enflamatuar hücre infiltrasyonu ile karakterizedir. Plazma hücrelerinin yoğunluğu, periodontal lezyon şiddetindeki artışla birlikte artar ve başarılı tedavi sonucunda azalma gösterir . B hücrelerinin bölünmesi ve farklılaşarak uygun antikör üreten plazma hücrelerine dönüşmesi için T hücrelerinin yardımına gereksinim olduğu bilinmektedir. Bu yüzden

insanlarda periodontitis lezyonlarında, T hücrelerinin immün reaksiyonları nasıl düzenlediği konusu önemli bir araştırma alanını oluşturmaktadır.

Yardımcı / uyarıcı T lenfositlerin baskılayıcı / sitotoksik T lenfositlere oranı (T4/T8); immünregülasyonu belirleyen önemli bir indeks olarak kabul edilmekle (149) birlikte, periodontitiste bu oranın değişim yönü konusunda henüz fikir birliğine varılamamıştır. Son on beş yılda bu alanda yapılmış olan araştırmalardan bir kısmı farklı periodontitis tipleri arasında periferik kana ait T4/T8 oranı yönünden fark bulunmadığını bildirmişlerdir (21, 22, 88, 91, 126, 134, 151). Buna karşılık, hasta gruplarında saptanan periferik kan T4/T8 oranının sağlıklı kontrol grubuna göre düşük olduğunu bildiren raporlar olduğu gibi (61), bu oranın periodontal hastalıklı bireylerde sağlıklı kontrol grubundan yüksek olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (2, 135). Dişeti dokusundaki T4/T8 oranının araştırıldığı çalışma sonuçları da benzer şekilde çelişkili görülmektedir. Periodontitis hastalarından elde edilen dişeti biyopsilerinde söz konusu oranın sağlıklı dokuda ve periferik kanda elde edilen oranlardan düşük olduğunu ileri süren çalışmalar bulunmaktadır (22, 27, 59, 88, 128, 136). Bununla birlikte, Syrjanen (131), Çelenligil (20), Meng & Zheng (82) periodontitisli dokularda T4/T8 oranının sağlıklı dokudaki orana kıyasla yüksek olduğunu ve dişetindeki enflamasyonun artmasıyla birlikte bu oranın da arttığını bildirmişlerdir (79). Periodontal hastalıkların immünopatogenezinde önemli yeri olan T4/T8 oranının karakteri konusundaki raporların böylesine çelişkili sonuçlar bildirmesinden yola çıkarak, farklı periodontitis tiplerinde söz konusu oranda ortaya çıkan lokal ve sistemik düzeydeki değişiklikleri kapsamlı bir çalışma dahilinde araştırmayı uygun bulduk.



## 2.GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Hasta popülasyonu

Bu çalışmaya Ege Üniversitesi, Diş hekimliği Fakültesi Periodontoloji kliniğine başvuran toplam 47 hasta dahil edildi. Hastalara çalışmanın yöntem ve amacı hakkında bilgi verildikten sonra, katılım için onayları alındı. Hasta seçiminde periodontitis dışında bir ağız hastalığının veya sistemik hastalığın bulunmamasına dikkat edildi. Ayrıca, son 6 aylık dönem içinde mikrobiyal florayı, immün sistemi veya enflamatuvar cevabı etkileyebilecek herhangi bir ilacın kullanılmamış ve periodontal tedavi uygulanmamış olunması koşulları arandı. Klinik ve radyografik verilere dayanılarak hastalara erişkin tip periodontitis veya erken yerleşen tip periodontitis (juvenil, postjuvenil periodontitis ve hızlı ilerleyen periodontitis) tanısı kondu. (93, 94, 109). Buna göre, yaşları 31 ile 56 arasında değişen (ortalama 41.2) 11 kadın,12 erkek hasta erişkin periodontitis grubunu oluştururken, yaşları 17 ile 37 arasında değişen (ortalama 21.6) 16 kadın ve 8 erkek hasta da erken yerleşen periodontitis grubunda yer aldı. Hasta gruplarında aranan ön koşullara sahip olan ancak klinik ve radyografik olarak periodontal hastalık belirtisi göstermeyen ve yaşları 16 ile 39 arasında değişen (ortalama 26) 17 birey ise (13 kadın, 4 erkek) sağlıklı kontrol grubunu meydana getirmek üzere seçildi. Juvenil periodontitis tanısı (109) konan hastalarda molar ve/veya kesici dişlerde lokalize, ileri kemik kayıpları ve bu periodontal doku yıkımıyla uyumluluk göstermeyen düşük plak indeks skorları söz konusuydu. Hızlı ilerleyen periodontitis tanısı (93) konulan hastalarda ise 15 veya daha fazla dişte ileri, yaygın kemik kaybı görülmekteydi. Erişkin periodontitis hastalarının seçiminde; erken yerleşen periodontitise dair herhangi bir belirti bulunmamasına ve horizontal kemik kayıpları olmasına dikkat edildi. Ayrıca, bu hastalarda görülen alveoler kemik kaybı mevcut plak miktarı ile uyumluydu. En az 6 bölgede 6mm veya daha derin cep varlığı ile birlikte 4mm veya daha fazla ataşman kaybı olması da aranan koşullardandı. Hastalardan detaylı bir medikal ve dental anamnez alındıktan sonra, periodontal durumun tesbit edilebilmesi için aşağıdaki klinik indeksler ve ölçümler yapıldı:

- 1- Plak indeksi (119)
- 2- Gingival indeks (75)
- 3- Papilla kanama indeksi (38)
- 4- Sondlanan cep derinliği
- 5- Klinik ataşman seviyesi

Tüm ölçümler, bütün dişlerin mezyal, distal, lingual (palatinal) ve bukkal (labiyal) yüzlerinde olmak üzere 4 bölgede gerçekleştirildi. Cep ve ataşman ölçümlerinde periodontal sond (Michigan sondu) kullanıldı ve interproksimal temas noktalarına en yakın noktalardan ölçüm yapılmasına çalışıldı. Tüm dişlerde mobilite (70) ve ayrıca çok köklü dişlerde furkasyon lezyonlarının varlığı ve derecesi araştırıldı. Radyografik muayenelerde ise, tam ağız seri periapikal radyografilerden ve panoramik filmlerden yararlanıldı.

Klinik ve radyografik muayenelerden sonra, hastalara periodontal hastalık ile ilgili bilgi verildi ve ağız hijyen eğitimleri sağlandı. Modifiye Bass tekniğine göre fırçalama yapmaları ve dişipi ve/veya arayüz fırçası ile arayüz temizliğini sağlamaları önerildi.

## 2.2. Biyopsi

Herhangi bir periodontal tedaviye başlamadan önce, her hastada birer bölgeden dişeti biyopsisi ve antekubital venöz damardan periferik kan örneği alındı. Kontrol grubunu oluşturan bireylerden ortodontik veya endodontik nedenle yapılan diş çekimleri sırasında ya da tam gömük üçüncü azı dişlerinin çekiminden önce dişeti biyopsileri elde edildi. Hasta gruplarında biyopsi alınacak bölgelerin seçiminde; en az 6mm cep derinliği ve en az 4mm ataşman kaybı olmasına dikkat edildi. Jetokain (%2 lignocain chloride, %0.00125 epinefrin, Adeka) ile yapılan lokal infiltrasyon anestezisi altında, 12 numara bistüri bıçağı kullanılarak interdental papilde iki vertikal ensizyon yapıldı. Bu ensizyonların horizontal bir ensizyonla birleştirilmesi yoluyla, alınan biyopsi derhal kriyostat içinde, -30°C de donduruldu. Doku örneğinin O.C.T. Compound (Miles Scientific Naperville, IL, USA) gömü materyaline yatırılması sırasında, kesitlerde ağız epiteli, cep epiteli ve bağ dokusunun birlikte bulunabilmesi amaçlandı. Mikrotom (Shandon 5030) ile 4-6µm kalınlıkta hazırlanan kesitler 4 ayrı lam üzerine üçer kesit olacak şekilde alındı. Primer antikorların içinde de aynı kromojen madde kullanıldığı için hedef hücrelerde aynı renk ve şekilde membran boyanmaları oluşmaktadır. Bu nedenle her hedef hücre için farklı birer lam kullanılmıştır. Boyama işlemleri sırasında dokunun lam üzerinden dökülmesini önlemek amacıyla önceden jelatin (%0.1 lik Poly L-lysine) kaplanmış lamlar tercih edildi (17, 104). Kesitler 2 saat süreyle oda sıcaklığında havayla kurumaya bırakıldı. Daha sonra +4°C lik soğuk asetonla 10

dakika süreyle tesbit edilen kesitler nem almayacak şekilde alüminyum folyo ile paketlenerek boyama gününe kadar  $-54^{\circ}\text{C}$  de saklandı.

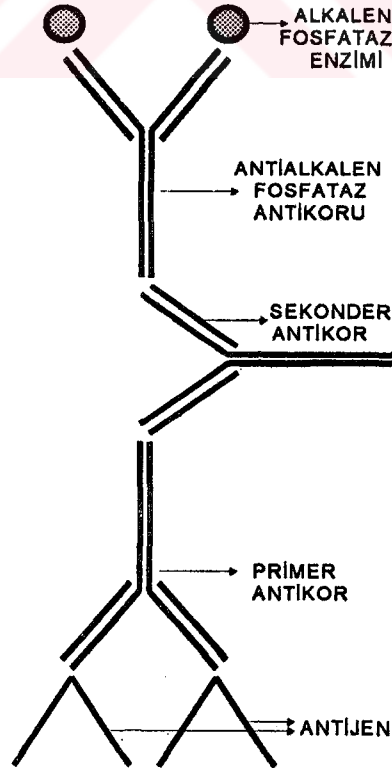
### 2.2.1. Histopatolojik incelemeler

Rutin hematoksilen ve eosin ile boyanan dördüncü lam yön saptanmasında rehber olarak ve histopatolojik inceleme yapılması amaçlarıyla kullanıldı..

### 2.2.2. İmmünohistokimyasal çalışmalar

Boyama gününde derin dondurucudan çıkarılarak oda sıcaklığına gelmesi beklenen kesitler paketlerden çıkarılarak ikinci kez  $+4^{\circ}\text{C}$  lik aseton ile 10 dakika tesbit edildi. Asetonun kuruması beklendikten sonra, 3-5 dakika süreyle Tris tamponlu saline (TBS; pH7.6, 0.05M Tris, 0.15M NaCl) ile ıslatıldı. Dişeti kesitleri, en hassas indirekt immünohistokimyasal tekniklerden birisi olan (104) çözünür enzim immün kompleks yöntemi ile boyandı. Kullandığımız boyama kitinde enzim immün kompleksi olarak alkale fosfataz enzimi ile bu enzime karşı monoklonal antikor bulunuyordu. Bu teknikte, insan hedef hücrelerinde bulunan yüzey antijenlerine karşı saflaştırılmış fare monoklonal antikorları primer antikor olarak kullanıldı (Şekil 2.1).

Bu primer antikorun Fab kolları hedef hücre antijenlerine bağlanırken Fc koluna tavşandan elde edilen anti-fare antikorunu bağlanır ki; bu sekonder antikordur (8). Sekonder antikor hem primer antikorun hem de enzim immün kompleksinin elde edildiği canlı türüne karşı olmalıdır. Ortamda bol miktarda sekonder antikor bulundurulur Fab kollarından biri primer antikor ile bağlanırken diğerinin serbest kalması sağlanır. İki alkale fosfataz molekülü ve bu enzime karşı bir antikordan oluşan APAAP kompleksi eklendiğinde sekonder antikorun serbest Fab kolu ile enzim kompleksindeki antikorun Fc kolu ile bağlanır.



Alkalen fosfataz enzimi, son olarak eklenen kromojen substrattaki (Fast Red) naftol fosfat esterlerini (substrat) hidrolize uğratar ve fenolik bileşiklerle fosfatlar oluşur. Fenoller renksiz diazonyum tuzları (kromojen) ile birleşerek çözünmeyen renkli azo boyalarını oluşturur, böylece hedef hücrelerin parlak kırmızı renkte boyanmaları sağlanır. APAAP kit (Resim 2.1) sistemi ( DAKO Corporation, Carpiteria, CA, USA) ile PBS (fosfat tamponlu saline) kullanılması halinde boyama reaksiyonu büyük ölçüde azalacağından hatta engelleneceğinden, TBS kullanılması gerekir.

Tampon solüsyonun fazlası kurulama kağıtları ve gazlı bezler yardımıyla kurulandıktan sonra kesitler üzerinde oda sıcaklığında ve nemli ortamda sırasıyla şu inkübasyonlar gerçekleştirildi:

- 1- Primer antikor (mouse anti-insan immünoglobülinler , anti-CD2, anti-CD4, anti-CD8) ile 30 dakika
- 2- Sekonder antikor (tavşan anti-mouse immünoglobülinleri) ile 30 dakika
- 3- Çözünür alkalen fosfataz anti-alkalen fosfataz immün kompleksi ile 30 dakika
- 4- Kromojen substrat solüsyonu (Fast Red) ile 20 dakika



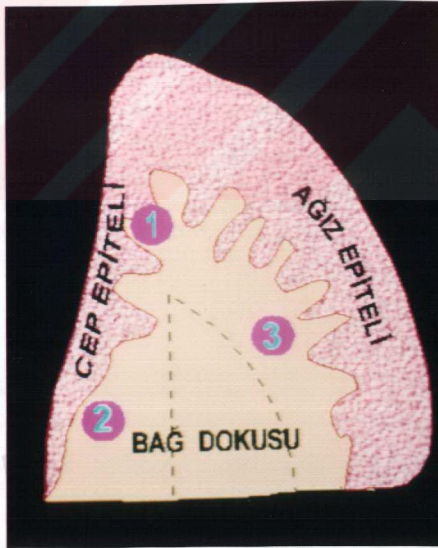
Resim 2.1 Çalışmada kullanılan alkalen fosfataz -anti alkalen fosfataz kiti, K671, DAKO

Çalışmada kullanılan antikorların kaynakları ve hedef hücreler Tablo 2.1 de verilmiştir. İnkübasyonlarda nemli ortam sağlanması için kapaklı kutuların içine yerleştirilen ıslatılmış kurutma kağıtlarından faydalandı. İnkübasyon işlem basamakları arasında lamlar TBS ile 2-3 dakika süreyle yıkandı ve tampon

solüsyonun fazlası kurulandı. İnkübasyonların tamamlanmasının ardından distile su ile yıkanan kesitlere alkol içermeyen Mayer hematoksileni ile zemin boyaması yapıldı. Önce distile su ile, daha sonra amonyaklı su ile yıkanan kesitler hafif ısıtılmış jelatin ve gliserin karışımı damlatılarak lamel ile kapatıldı. Yapıştırıcının kuruması beklendikten sonra, kesitlerin hava alarak kurumalarını önlemek amacıyla lamelin kenarları şeffaf tırnak cilası sürülerek izolasyon sağlandı. Boyanan lamlar fazla ışık ve ısı almayacak şekilde muhafaza edildi. Ayrıca, pozitif kontrol olarak insan tonsilinden elde edilen taze kesitler ve negatif kontrol amacıyla da primer antikor yerine TBS damlatılan kesitler her boyama gününde olgu kesitleri ile birlikte ve aynı şekilde çalışıldı.

### 2.2.3. Hücre sayımı

Hücre sayımlarının tümü ışık mikroskopunda (Olympus BH-2) ve X400 büyütmede gerçekleştirildi. Sayımları yapan araştırmacı olgunun hangi çalışma grubuna dahil olduğunu bilmemekteydi. Sayım yapmak üzere 3 ayrı lokalizasyonu temsil edebilecek 3 mikroskop alanı seçildi (Resim 2.2).



Resim 2.2 Dişeti kesitlerinde hücre sayımı yapılan alanlar

Birinci alan sulkuler epitel altında ve dişeti tepesinin hemen yakınında idi. Bu bölgenin seçiminde supragingival plak ve subgingival plağın yüzeysel kısmının enflamatuvar etkisinin araştırılması hedeflendi. İkinci olarak, derin subgingival plağın neden olduğu reaksiyonların araştırılabilmesi amacıyla, yine cep epiteli altında, ancak apikalde, cep tabanı hizasında bir mikroskop alanı seçildi. Üçüncü ve son olarak plağın etkilerinden oldukça uzakta yer alan ağız epitelinin hemen altındaki bir alanda sayım yapıldı. Ayrıca, her üç bölgenin de orta bağ dokusu dışında kalmasına dikkat edildi. Herbir alanda mevcut tüm mononükleer hücreler sayılarak monoklonal antikorlar ile pozitif boyanmış hücrelerin miktarı % olarak ifade edildi. Sayım için seçilen bir mikroskop alanı yaklaşık 0.2mm<sup>2</sup> alana sahipti. Her lam üzerindeki üçer kesitte sayım yapılarak o olguya ait ortalama değerler hesaplandı.

### **2.3. Periferik kan lenfositlerinin analizi.**

Herhangi bir periodontal tedaviye başlamadan önce, dişeti biyopsilerinin alındığı gün antekubital venöz damardan periferik kan örnekleri elde edildi. Vacutainer tüpler (Becton & Dickinson, USA) aracılığıyla alınan 5ml venöz kan aynı gün içinde Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Organ Nakli Uygulama ve Araştırma Merkezi, Doku Tipi Laboratuvarında üç renkli flow sitometri cihazı ile analiz edildi. Kullanılan monoklonal antikorlar Tablo 2.1 de gösterilmiştir. EDTA içeren tüplere alınan 5ml venöz kan eşit hacimdeki Hanks' solüsyonu pH 7.2 (HBSS, Sigma Chemical Co. St.Louis, MO,USA) ile seyreltildi ve 5ml LymphoPrep (Nycomed, Oslo, Norveç) solüsyonu üzerine dikkatle tabakalandırıldı. Oda sıcaklığında 700 devirde, 20 dakika süreyle santrifüje edildikten sonra, plazma-LymphoPrep aralığından mononükleer hücreler aspire edilerek fosfat tampon solüsyonu (PBS, pH 7.2) ile yıkandı ve 300 devirde 10 dakika süreyle tekrar santrifüje edildi. Lenfositlerin işaretlenmesi, daha önceden anlatıldığı şekilde (17) iki renkli Simulset Immune Monitoring Plus Kit (Becton & Dickinson, CA, USA) aracılığıyla yapıldı. Lenfosit altgrupları, FacScan flow cytometry (Becton & Dickinson, CA, USA) ve Simulset Software (Becton & Dickinson, CA, USA) kullanılarak kantitatif olarak % değerler şeklinde analiz edildi.

Tablo 2.1 Çalışmada Kullanılan Monoklonal Antikorlar

CD	Gen Ailesi	Eşanlam	Moleküler Yapı	Hücre	Fonksiyon	Üretici Firma
CD2	Ig	T11, LFA-2	55kD monomer	insanda >%90 olgun T hücreleri	Adezyon molekülü, T hücre aktivasyonu	DAKO
CD3		T3, Leu-4	5 zincirden oluşur	T hücreleri	T hücrelerinin antijeni tanınmasından sonra sinyal iletimi	Becton & Dickinson
CD4	Ig	T4, Leu-3	55kD monomer	Sınıf II MHC ye bağımlı hücreler, makrofajlar	Adezyon molekülü sinyal iletimi	DAKO ve Becton & Dickinson
CD8	Ig	T8, Leu-2	2 tane 34kDluk zincir içerir	Sınıf I MHC ye bağımlı T hücreleri		Becton & Dickinson
CD19		B4	90kD	B hücrelerinin çoğunluğu	B hücre aktivasyonu	Becton & Dickinson
CD25		TAC, p55, düşük afiniteli IL-2 reseptörü	55kD	Aktif T ve B hücreleri, makrofajlar	p70 ile birleşir, T hücre büyümesinde rol oynar	Becton & Dickinson



Resim 2.3 Kan analizlerinin yapıldığı flow sitometri cihazı, FACSCAN, Becton and Dickinson

## 2.4. İstatistiksel değerlendirmeler

Elde edilen sonuçlar Ege Üniversitesi Bilgisayar Araştırma ve Uygulama Merkezinde istatistiksel olarak değerlendirildi. Doku ve kan değerleri ile klinik parametreler arasındaki ilişki korelasyon analizi ile, dokuda hücre sayımı yapılan üç ayrı bölgeye ait sonuçlar eşleştirilmiş  $t$  testi ile ve erişkin periodontitis, erken yerleşen periodontitis (juvenil periodontitis, hızlı ilerleyen periodontitis) ve sağlıklı kontrol gruplarına ait sonuçların birbiriyle kıyaslaması tek yönlü varyans analizi ile yapıldı. Daha sonra bu dört grup arasında anlamlı fark bulunan parametrelere ikili kıyaslamalar için Newman - Keuls testi uygulandı.





### 3. BULGULAR

Çalışma için seçilen, 47 periodontitis hastası ve 17 sağlıklı birey olmak üzere toplam 64 bireyden hem periferik kan hem de dişeti dokusu örnekleri alındı.

Plak indeksi, gingival indeks, sondlanan cep derinliği, ataşman seviyesi ve kanama indeksi yönünden sağlıklı kontrol grubu herbir hasta grubuyla anlamlı farklılık gösteriyordu ( $p<0.01$ ). Erişkin periodontitis ve erken yerleşen periodontitis gruplarına ait ölçümler ise birbirine çok yakın bulunmuştur (Tablo 3.1). Her boyama seansında yapılan negatif kontrollerde hedef hücrelerde boyanma olmadığı, pozitif kontrol amacıyla boyanan tonsil kesitlerindeki lenfositlerde ise belirgin membran boyanması olduğu tesbit edildi.

Tablo 3.1 Tüm Gruplara Ait Klinik Ölçümler

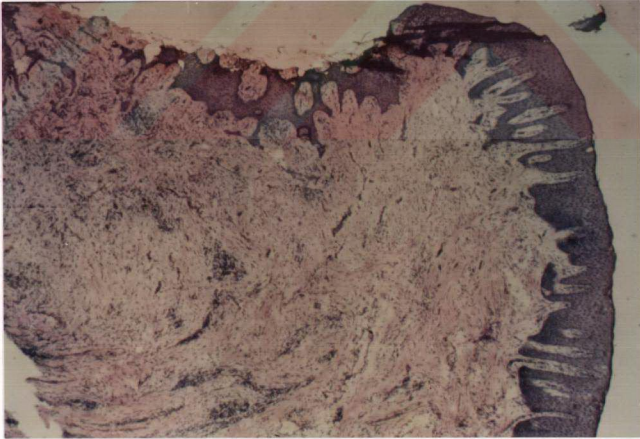
	Erişkin P	Hızlı İlerleyen P	Juvenil P	Erken Yerleşen P	Sağlıklı Kontrol
Cep Derinliği	6.08±0.32	8.00±0.85	7.13±0.43	7.45±0.41	2.76±0.16
Ataşman Kaybı	5.87±0.24	6.44±0.41	6.53±0.5	6.5±0.34	1.11±0.08
Plak İndeksi	1.69±0.13	1.55±0.17	1.53±0.16	1.54±0.12	1.0±0.12
Gingival İndeks	2.04±0.16	1.77±0.27	1.8±0.14	1.79±0.13	0.23±0.10
Kanama	3.08±0.2	3.11±0.45	3.0±0.25	3.04±0.22	0

#### 3.1. Histopatolojik bulgular:

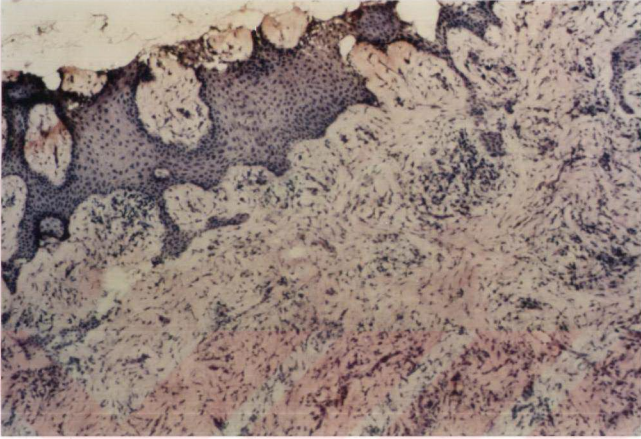
Test grubunu oluşturan erişkin periodontitis ve erken yerleşen periodontitis (juvenil periodontitis ve hızlı ilerleyen periodontitis) hastalarına ait dişeti biyopsilerinden alınan ve Hematoksilen-Eosin ile boyanan kesitlerin tümünde farklı miktarlarda enflamatuar infiltrat görüldü.

Genel olarak, bağ dokusunda yoğun ve yaygın kronik enflamasyon bulguları yani lenfosit, plazma hücresi, monosit, makrofaj infiltrasyonu vardı. Polimorf nüveli lökositler ise oldukça az görülmekte ve daha çok cep epiteli altında yer almaktaydı (Resim 3.1). Hücrelerin tanımlanması bilinen morfolojik kriterlere göre yapıldı (13). Polimorf nüveli lökositler çok loblu hücre çekirdekleri ve granüler bazofilik sitoplazmaları ile diğer hücrelerden ayrılmaktaydı. Ovoid formdaki plazma hücreleri ekzantrik yerleşmiş hücre çekirdeği, açık perinükleer bölge ve kromatinde ışınal dağılım ile karakterize idi. Lenfosit, plazma hücresi, monosit ve

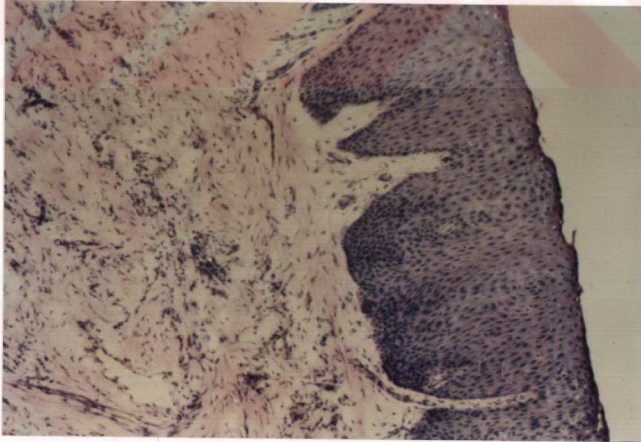
makrofajlar mononükleer kronik enflamasyon hücreleri olarak aynı grupta toplandı. Bütün biyopsilerde enflamatuar infiltrasyonun en yoğun olduğu bölge cep epitelinin hemen altındaki bağ dokusu kısmıydı. Cep epitelindeki retepeglerde bağ dokusu içine belirgin uzamalar, interselüler ödem, yer yer alttaki bağ dokusundan ayrılmalar, incelmeler ve farklı derecelerde ülserasyon alanları görüldü (Resim 3.2). Bağlantı epitelinin bilinen çok katlı yapısı genellikle kaybolmuştu. Ağız epitelinde ise farklı derecelerde akantoz ve parakeratoz izlendi (Resim 3.3). Özellikle serbest dişeti kenarına yakın kısımlarda (sulkuler epitel) retepeglerde uzama, epitelde yer yer kalınlaşmalar vardı (Resim 3.4). Ayrıca, hem ağız epiteli hem de cep epiteli içinde yer yer polimorf nüveli lökositler ve lenfositler göze çarpıyordu. Bağ dokusundaki infiltrasyon cep epiteli altında ve perivasküler alanlarda yoğunlaşıyordu. Enflamatuar infiltrata lenfositler ve plazma hücreleri hakimdi. Bazı alanlarda ödem, kollagen yıkımı ve kapiller damarlarda dilatasyon görüldü. Hücre infiltrasyonunun boyutu ve yoğunluğu küçük mesafelerde bile değişiklik gösterirken özellikle dilate kapillerler çevresinde yoğun enflamatuar hücre kümelenmeleri gözlemlendi. Bu odaklar ağız epiteli altındaki bağ dokusu kısımlarında da izlendi.



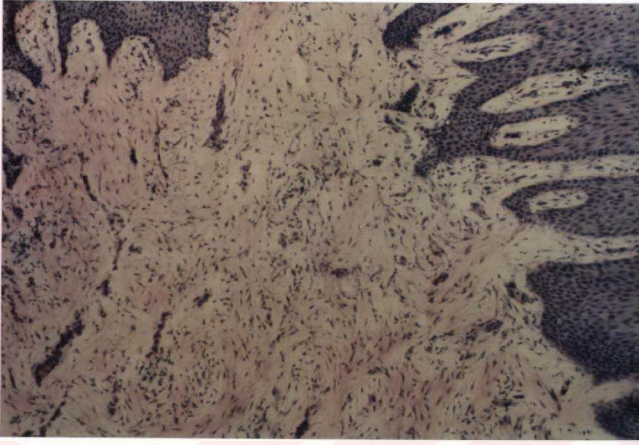
**Resim 3.1** Histopatolojik inceleme amacıyla kullanılan hematoksilen ve eosin ile boyanmış dişeti kesiti (X40)



**Resim 3.2** Resim 3.1 deki kesitte hedef hücrelerin sayıldığı ikinci bölge, cep epitelinin apikal kısmındaki bağ dokusu. Cep epiteline ait retepeglerde yer yer bağ dokusu içine uzamalar, yer yer bağ dokusundan koprnalar, ülserasyon alanları (X100)



**Resim 3.3** Aynı olguya ait kesitte hücre sayımı yapılan üçüncü bölge ağız epiteline komşuluktaki bağ dokusu. Ağız epitelinde düzensiz akantoz (X100)



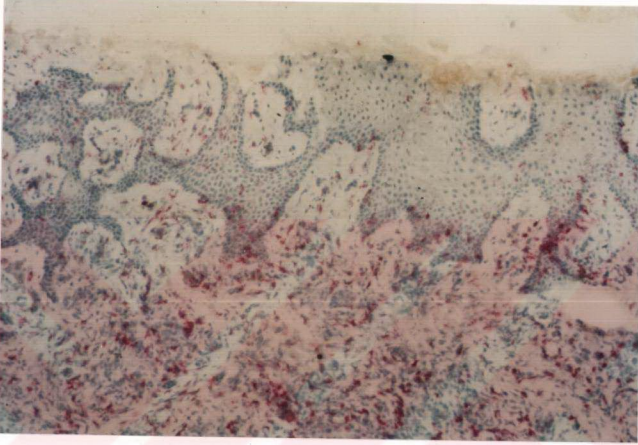
**Resim 3.4** Aynı olguya ait kesitte, hücre sayımı yapılan birinci bölge, sulkuler epitele komşu bağ dokusu. Sulkuler epitele ait retepeglerde belirgin uzamalar ve yer yer kalınlaşmalar (X100)

Kontrol grubunu oluşturan, klinik olarak sağlıklı dişeti biyopsilerinde de farklı miktarlarda enflamatuvar hücre infiltrasyonu özellikle bağlantı epiteli yakınındaki bağ dokusunda izlendi. Ağız epitelindeki retepeg yapılarında belirgin bir uzama veya kalınlaşma yoktu. Ağız epiteli keratinize iken bağlantı epitelinde keratinizasyon görülüyordu. Bu arada bağ dokusundaki damar yapıları test gruplarındakine oranla azdı ve kollagen kaybı göze çarpmıyordu.

### 3.2. İmmünohistokimyasal analizler:

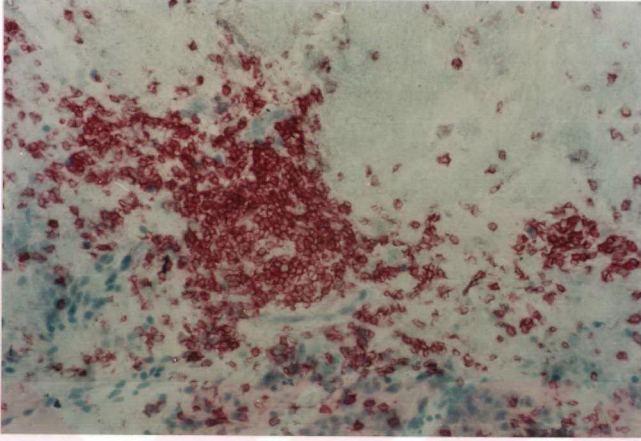
Erişkin periodontitis, erken yerleşen periodontitis ve klinik olarak sağlıklı dişeti örneklerinde elde edilen CD2+, CD4+ ve CD8+ hücre sayım sonuçları Tablo3.2-3.6 de verilmiştir. Sonuçlar APAAP kiti ile pozitif boyanan hücrelerin alandaki tüm mononükleer hücre sayısına oranlanmasıyla elde edildiği için % olarak ifade edilmiştir. Ancak, alınan biyopsilerde, sayım yapılacak alanların lokalizasyonlarının yapılamaması, biyopsi materyalinin çok yüzeysel olması ve submukozal bölgenin çok az görülmesi gibi nedenlerle toplam 8 bireye ait biyopside immünohistokimyasal analiz ve hücre sayımı yapılamadı. Bu bireylere ait kan sonuçları ise problemsiz şekilde elde edildiğinden çalışma kapsamından çıkarılmadı.

İncelenen kesitlerin tümünde anti-CD2, anti-CD4 ve anti-CD8 antikorumları ile pozitif boyanmış hücreler parlak kırmızı halkalar şeklinde görüldü. Genel olarak pozitif boyanan hücreler cep epiteline komşu olan bağ dokusunda yoğunluk kazanıyordu (Resim 3.5).



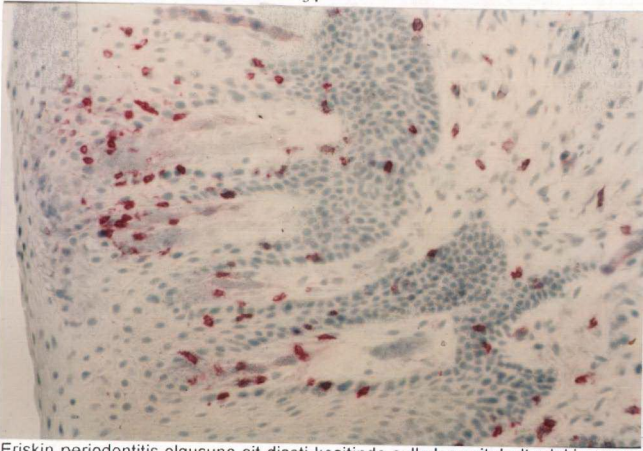
**Resim 3.5** Cep epiteli ve altındaki bağ dokusunda CD2+ hücreler. Bütün epitel boyunca yaygın ve yoğun T hücre infiltrasyonu (X100)

Bununla birlikte, merkezi bağ dokusu alanlarında ve ağız epiteline komşuluktaki submukozal bölgelerde de pozitif boyanan hücreler vardı. Ayrıca, cep epiteli ve ağız epiteli içinde de yer yer demetler halinde fakat sıklıkla tek tek bulunan hedef hücreler izlendi. Bağ dokusu alanlarında bulunan T lenfositler bazı kesitlerde dağınık haldeyken bazılarında kümelenmiş ve hatta tabakalar oluşturmuştu (Resim 3.6).



**Resim 3.6** Postjuvenil periodontitis olgusuna ait dişeti kesitinde cep epiteli altında yer alan ve ikinci sayım alanını oluşturan bölgede CD8+ hücreler (X200 Parlak kırmızı halkalar şeklinde boyanmış olan baskılayıcı T lenfositler bölgeye dağılmış oldukları gibi yer yer çok yoğun kümelenmeler göstermektedir.

Erişkin periodontitis grubunda hücre sayımı yapılan 23 biyopsi değerlendirildiğinde her hücre grubunun ortalama değerleri yönünden birinci ve üçüncü sayım alanları arasında belirgin korelasyon ( $p < 0.05$ ) saptandı (Tablo 3.2). CD4+ ve CD8+ hücreler (Resim 3.7) yönünden bu ilişki daha da belirgindi ( $p < 0.01$ ). İkinci sayım alanı dikkate alındığında ise birinci alan ile sadece CD4+ hücreler yönünden benzer bir ilişki ( $p < 0.01$ ) görüldü. Sayım alanları birlikte değerlendirildiğinde, yani üç bölgeye ait sonuçların ortalaması alındığında, CD2+, CD4+ ve CD8+ hücrelerin her üçünün de birbirleriyle pozitif korelasyon gösterdiği saptandı. Bu arada, biyopsi alınan bölgeye ait gingival indeks ile üç bölge ortalaması CD4+ hücre değeri arasında istatistiksel anlamda belirgin korelasyon ( $p < 0.05$ ) vardı. Yine gingival indeks ile ikinci alandaki CD4+ ve CD8+ hücreler pozitif ilişkiliydi ( $p < 0.05$ ).



**Resim 3.7** Erişkin periodontitis olgusuna ait dişeti kesitinde sulkuler epitel altındaki sayım bölgesi. Ağız epitelinde bazal tabakada belirgin kalınlaşma. Epitel içinde ve altında CD8+ hücreler (X200).

**Tablo 3.2** Erişkin Periodontitis Grubunda Hücre Dağılımı

	Birinci Bölge	İkinci Bölge	Üçüncü Bölge	Üç Bölge Ortalaması
<b>CD2+</b>	36.57±4.57	37.51±5.06	32.05±4.87	35.38±3.42
<b>CD4+</b>	25.51±5.01	26.89±3.86	19.5±3.98	23.97±3.48
<b>CD8+</b>	29.41±4.55	25.97±4.06	24.04±3.93	26.47±3.15
<b>CD4+/CD8+</b>	1.00±0.2	1.39±0.26	0.9±0.2	1.1±0.15

Altı olguya ait dişeti örneğinin yer aldığı hızlı ilerleyen periodontitis grubunda ise bölgeler arasında istatistiksel bir ilişki saptanamadı (Tablo 3.3). Ancak, birinci bölgede CD4+, CD8+ hücreler arasında pozitif korelasyon ( $p<0.05$ ) ve ikinci bölgede de her hücre grubunun birbiriyle pozitif korelasyon ( $p<0.01$ ) gösterdiği belirlendi. Dokuya ait sonuçlar ile klinik parametreler arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, plak indeksi ile birinci bölge CD2+ ( $p<0.01$ ) ve CD8+ ( $p<0.05$ ) arasında pozitif korelasyon bulunurken gingival indeks ile üçüncü bölge CD4+ arasında negatif korelasyon ( $p<0.01$ ) saptandı.

**Tablo 3.3 Hızlı İlerleyen Periodontitis Grubunda Hücre Dağılımı**

	<b>Birinci Bölge</b>	<b>İkinci Bölge</b>	<b>Üçüncü bölge</b>	<b>Üç Bölge Ortalaması</b>
<b>CD2+</b>	36.63±6.88	33.0±10.7	37.66±7.53	35.78±7.19
<b>CD4+</b>	30.79±8.37	26.48±9.43	29.79±6.34	29.02±6.67
<b>CD8+</b>	21.56±4.58	16.51±5.74	13.24±3.28	17.11±3.83
<b>CD4+/CD8+</b>	1.5±0.2	1.75±0.56	2.98±0.84	2.08±0.22

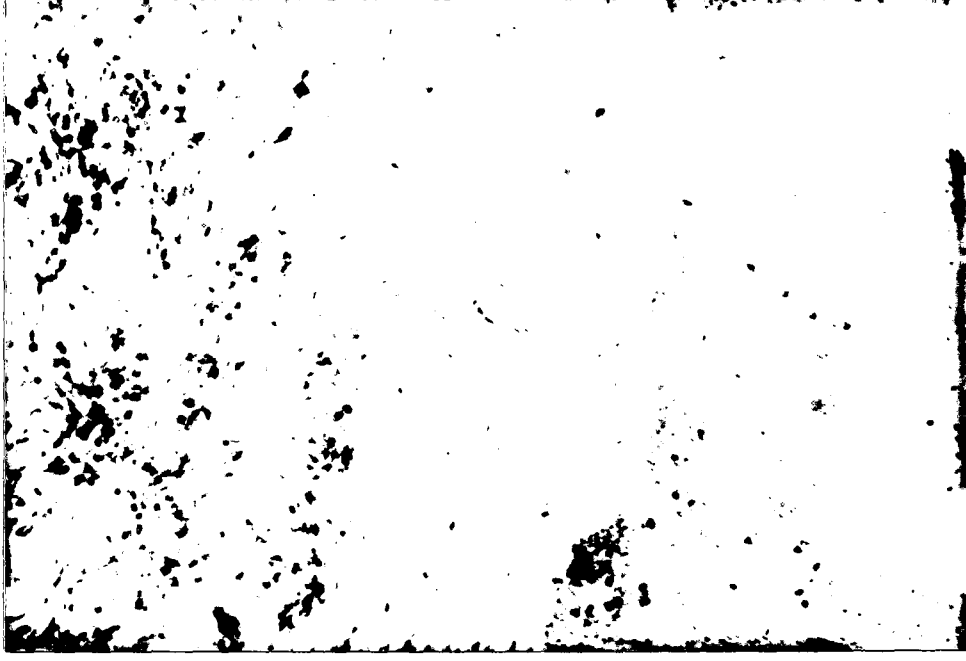
Oniki olgunun yer aldığı juvenil periodontitis grubuna ait sonuçlar değerlendirildiğinde, CD4+ hücre sayımları birinci ve ikinci bölgelerde ilişkili ( $p<0.05$ ) bulundu (Tablo 3.4). Bu arada plak indeksi ile ikinci bölgedeki CD8+ ve birinci bölgedeki CD4+ arasında negatif korelasyon ( $p<0.05$ ) görülürken gingival indeks ile ikinci bölge CD8+ arasında da negatif korelasyon ( $p<0.05$ ) vardı.

**Tablo 3.4 Juvenil Periodontitis Grubunda Hücre Dağılımı**

	<b>Birinci Bölge</b>	<b>İkinci Bölge</b>	<b>Üçüncü Bölge</b>	<b>Üç Bölge Ortalaması</b>
<b>CD2+</b>	19.10±3.72	31.12±6.13	18.76±3.02	22.99±3.27
<b>CD4+</b>	12.03±3.55	26.36±6.09	20.53±5.20	19.64±4.11
<b>CD8+</b>	39.08±3.14	13.78±2.89	11.45±2.46	21.7±10.9
<b>CD4+/CD8+</b>	1.55±0.39	2.29±0.7	2.76±0.98	2.2±0.43

Hızlı ilerleyen periodontitis ve juvenil periodontitis olgularının birleştirilmesiyle oluşturulan erken yerleşen periodontitis grubunda toplam 18 olgunun immünohistokimyasal incelemesi yer aldı (Tablo 3.5). Burada birinci, ikinci ve üçüncü bölgede sayılan CD4+ hücreler (Resim 3.8) pozitif korelasyonlu bulundu ( $p<0.01$ ). Ayrıca, birinci bölgedeki CD4+ sayımı ikinci ve üçüncü bölgelerdeki CD8+ hücreler ile pozitif ilişkiliydi ( $p<0.01$ ). Üç bölgenin birlikte değerlendirilmesi halinde ise CD2+ hücreler ile CD4+ hücreler arasında belirgin pozitif ilişki görüldü ( $p<0.01$ ).





**Resim 3.8** Ağız epiteli altındaki sayım bölgesinde APAAP ile boyanmış CD4+ hücreler. Tek tek ağız epiteli içinde de izlenmekle beraber epitel altındaki bağ dokusunda dağınık ve yer yer odaklar halinde toplanmış. Bu odaklardan biri perivasküler alandadır (X200). Epitelde belirgin akantoz ve bazal tabaka kalınlaşması

**Tablo 3.5 Erken Yerleşen Periodontitis Grubunda Hücre Dağılımı**

	Birinci Bölge	İkinci Bölge	Üçüncü Bölge	Üç Bölge Ortalaması
<b>CD2+</b>	24.94±3.82	31.76±5.25	25.06±3.76	27.25±3.44
<b>CD4+</b>	18.28±4.11	26.4±4.97	23.62±4.09	22.77±3.58
<b>CD8+</b>	33.7±2.08	14.69±2.63	12.05±1.93	20.15±7.26
<b>CD4+/CD8+</b>	1.54±0.26	2.11±0.49	2.83±0.69	2.16±0.29

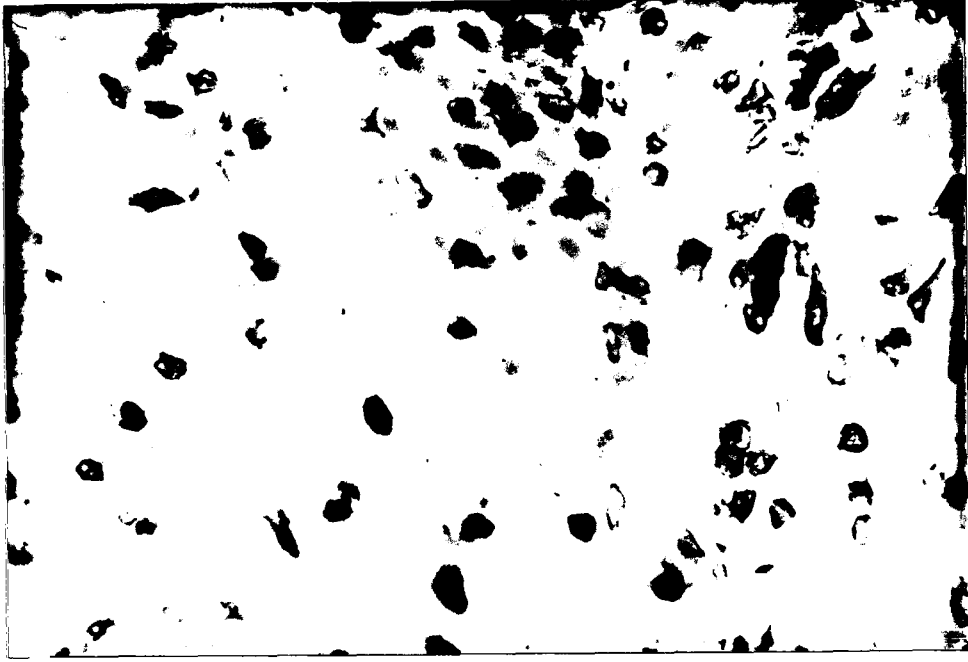
Klinik olarak sağlıklı 15 olguya ait biyopsilerin korelasyon analizi aracılığıyla istatistiksel değerlendirmesinde üç bölgede de CD4+ ve CD8+ hücrelerinin pozitif korelasyonlu ( $p<0.05$ ) olduğu saptandı (Tablo 3.6). Benzer şekilde hem ayrı ayrı üç bölgede hem de üç bölge ortalamasında CD2+ hücreleriyle CD4+ ve CD8+ hücreleri pozitif korelasyonlu ( $p<0.05$ ) bulundu. Ayrıca, üç bölgenin ortalama CD4+ ve CD8+ değerleri plak indeksi ile pozitif ilişki ( $p<0.05$ ) göstermekteydi.

**Tablo 3.6 Sağlıklı Kontrol Grubunda Hücre Dağılımı**

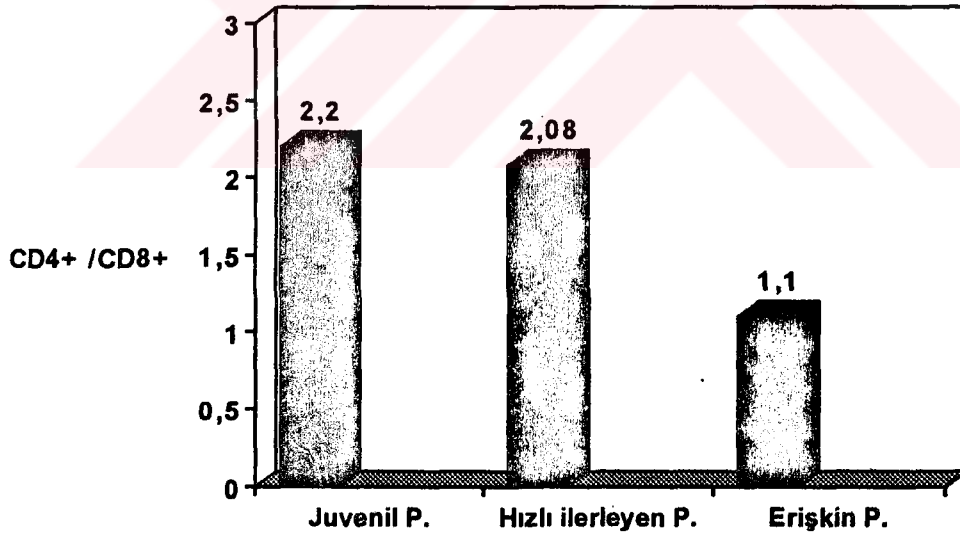
	Birinci Bölge	İkinci Bölge	Üçüncü Bölge	Üç Bölge Ortalaması
<b>CD2+</b>	43.15±6.03	49.89±7.4	34.23±7.02	42.42±5.58
<b>CD4+</b>	28.09±5.0	33.88±6.45	20.53±4.44	27.50±4.09
<b>CD8+</b>	30.95±4.99	22.38±5.59	23.23±5.36	25.52±4.58
<b>CD4+/CD8+</b>	1.01±0.15	2.22±0.66	1.13±0.14	1.45±0.2

Sayım yapılan üç alana ait değerler arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunup bulunup bulunmadığını değerlendirmek için eşleştirilmiş t testi uygulandı. Buna göre erişkin periodontitiste (n=23) ikinci ve üçüncü bölgelerdeki CD4+/CD8+ oranında anlamlı fark (p<0.05) gözlemlendi. Juvenil periodontitis (n=12) grubunda ise birinci ve ikinci bölge arasında CD4+(Resim 3.9) yönünden, ikinci ve üçüncü bölge arasında da CD2+ yönünden anlamlı fark (p<0.05) bulundu. Sağlıklı grupta (n=15) benzer şekilde, anlamlı bir fark; ikinci ve üçüncü bölgelerdeki CD2+ ve CD4+ hücrelerde saptandı (p<0.05). Hızlı ilerleyen periodontitiste ise bölgelerin birbiriyle kıyaslanmasında anlamlı bir farka rastlanmadı. Aynı amaçla yapılan Wilcoxon testi de bu sonuçları doğruladı.

Erişkin periodontitis, hızlı ilerleyen periodontitis, juvenil periodontitis ve sağlıklı kontrol şeklinde oluşturulan 4 ve erişkin periodontitis, erken yerleşen periodontitis ve sağlıklı kontrol şeklinde oluşturulan 3 grup birbiriyle tek yönlü varyans analizi aracılığıyla kıyaslandı. Gruplar arasında yaş (p<0.01), birinci bölgedeki CD2+ (p<0.05), üçüncü bölgedeki CD4+/CD8+ oranı (p<0.01), üç bölge ortalamasında CD2+ (p<0.05) ve yine üç bölge ortalaması olan CD4+/CD8+ oranı (p<0.01) yönünden anlamlı farklar tesbit edildi. Daha sonra bu parametrelere ikili kıyaslamaların yapılabilmesi için varyans analizini takiben Newman-Keuls testi uygulandı. Bu test sonucunda birinci bölgedeki CD2+ hücrelerin sağlıklı kontrol ve juvenil periodontitis arasında anlamlı farklılık gösterdiği (p<0.05) tesbit edildi. Üçüncü bölgedeki CD4+/CD8+ oranı ise erişkin ve hızlı ilerleyen periodontitis gruplarında farklı bulundu (p<0.05). Üç bölgenin birlikte dikkate alınması halinde ise CD2+ hücrelerin sağlıklı ve juvenil periodontitis arasında, CD4+/CD8+ oranının da erişkin ile juvenil periodontitis ve erişkin ile hızlı ilerleyen periodontitis arasında anlamlı farklılık taşıdığı saptandı (Grafik 3.1).



**Resim 3.9** Hücre sayımının yapıldığı büyütmede ve ikinci sayım alanında yer alan CD4+ hücreler. Hem cep epitelinde hem de altındaki bağ dokusunda yoğun infiltrasyon (X400)



**Grafik 3.1** Erişkin ve erken yerleşen periodontitis gruplarında üç bölgede elde edilen CD4+/CD8+ değerleri

### 3.3. Periferik kan flow sitometrik analiz bulguları:

Her hastadan alınan 5ml taze kan örneğinde yapılan flow sitometrik analiz sonuçlarına göre (Tablo 3.7); 23 olgunun yer aldığı erişkin periodontitis grubunda CD3+ hücreler ile CD4+ hücreler arasında pozitif ilişki ( $p<0.01$ ) bulunurken CD4+ ve CD8+ hücreler arasında negatif korelasyon ( $p<0.05$ ) gözlemlendi. HLA-DR+ hücreler ise hem CD4+ ( $p<0.05$ ), hem CD19+ ( $p<0.05$ ) ve hem de IL-2R+ hücreler ( $p<0.01$ ) ile pozitif korelasyon gösteriyordu. Ayrıca IL-2R+ hücreler CD4+ hücrelerle ( $p<0.01$ ) ve CD4+/CD8+ oranı ile ( $p<0.05$ ) ilişkiliydi.

Dokuz olguya ait kan örneğinin incelendiği hızlı ilerleyen periodontitis grubunda da CD3+ ile CD4+ arasında pozitif ( $p<0.05$ ), CD3+ ile CD8+ arasında negatif ( $p<0.05$ ), CD4+ ile CD8+ arasında negatif ( $p<0.01$ ) ve HLA-DR+ ile CD4+ arasında pozitif ( $p<0.05$ ) olmak üzere korelasyonlar bulundu. CD3+ hücreler ile CD4+/CD8+ oranı ise birbiriyle pozitif ilişkiliydi ( $p<0.05$ ). Bu arada, kan analizinde yer alan IL-2R+ hücreler ile dokuda sayım yapılan üç alanın ortalama CD4+ ( $p<0.01$ ) ve CD8+ ( $p<0.05$ ) değerleri arasında da pozitif korelasyon saptandı.

**Tablo 3.7 Flow Sitometrik Kan Değerleri**

	Normal değerler	Erişkin P.	Hızlı ilerleyen P.	Juvenil P.	Erken yerleşen P.	Sağlıklı kontrol
<b>CD2+</b>	60-85	68.7±2.1	67.67±2.5	75.87±2.1	72.79±1.8	70.24±2.2
<b>CD4+</b>	29-59	44.26±2.3	39.78±2.7	45.27±2.1	43.21±1.7	42.06±2.3
<b>CD8+</b>	19-43	32.61±1.7	32.44±1.1	35.4±1.5	34.29±1.1	32.47±2.0
<b>CD4+/CD8</b>	1-1.8	1.46±0.1	1.25±0.1	1.34±0.1	1.31±0.1	1.38±0.1
<b>CD19+</b>	7-23	10.6±0.7	11.78±2.4	11.73±1.3	11.75±1.2	8.70±0.9
<b>HLA-DR+</b>	-	4.87±0.4	3.33±0.5	6.13±0.5	5.08±0.5	5.58±0.8
<b>CD25+</b>	-	19.13±2.2	13.78±2.5	18.53±2.4	16.75±1.8	14.65±2.1

Juvenil periodontitis grubunda ise toplam 15 hastaya ait kan örnekleri değerlendirildi. Erişkin periodontitis ve hızlı ilerleyen periodontitis gruplarıyla ilgili olarak bahsedilen korelasyonlar burada da bulundu. Yine hızlı ilerleyen periodontitise benzer şekilde, CD3+ ve CD4+/CD8+ oranı arasında pozitif

korelasyon ( $p < 0.05$ ) görüldü. Burada ilginç olan CD8+ hücreler ile CD19+ hücrelerin belirgin bir pozitif ilişki ( $p < 0.01$ ) göstermeleriydi.

Juvenil periodontitis ve hızlı ilerleyen periodontitis hastalarının birleştirilmesiyle elde edilen ve 24 hastadan oluşan erken yerleşen periodontitis grubunda ise CD3+ ile CD4+ ( $p < 0.01$ ), CD3+ ile CD4+/CD8+ oranı ( $p < 0.05$ ), HLA-DR+ ile CD3+ ( $p < 0.01$ ) ve HLA-DR+ ile CD4+ ( $p < 0.05$ ) hücreler arasında pozitif ilişki saptandı. Diğer gruplara benzer şekilde CD4+ ve CD8+ hücreler arasında da negatif korelasyon ( $p < 0.05$ ) vardı. Bu gruba ait ilginç bir bulgu; yaş ile CD3+ hücreler arasında saptanan negatif korelasyon ( $p < 0.05$ ) oldu.

Klinik parametrelere göre, sağlıklı kabul edilen toplam 17 olgunun yer aldığı kontrol grubuna ait flow sitometri sonuçları CD3+ ile CD4+ hücreler ( $p < 0.01$ ) ve IL-2R+ ile HLA-DR+ hücreler ( $p < 0.05$ ) arasında pozitif korelasyon bulunduğunu ortaya koyarken, yaş ile CD8+ hücreler arasında da pozitif bir ilişki ( $p < 0.05$ ) vardı.

Erişkin periodontitis, hızlı ilerleyen periodontitis, juvenil periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarına ait flow sitometrik kan analizi sonuçları tek yönlü varyans analizi ile kıyaslandı ve 4 grup arasında hiçbir parametre yönünden anlamlı bir farka rastlanmadı.

CD4+/CD8+ oranı aracılığıyla lokal ve sistemik immün regülasyonun değerlendirilmesi her grup içinde periferik kan ve doku ortalama sonuçlarının kıyaslanması ile sağlandı. İstatistiksel analiz sonuçları söz konusu oranın lokal ve sistemik değerleri arasında anlamlı fark bulunmadığını gösterdi.

## 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Normal ve patolojik immün reaksiyonlarda etkili olan immün regülatör sistemler oldukça karmaşıktır. Subgingival sahada kolonizasyon gösteren plak bakterileri ve bunların metabolik ürünleri nonspesifik ve spesifik immün sistemleri harekete geçirebilmektedir. Sıvısal ve hücresele immün yanıt faktörlerinin periodontal hastalık patogenezindeki rolü son yıllarda periodontoloji alanında bilgi birikiminin en hızlı ilerlediği dinamik araştırma konularından biridir. Sıvısal immün yanıt temel olarak subgingival plak bakterilerine karşı antikor üretimini kapsarken, hücresele immün yanıt periodontal lezyondaki infiltratta yer alan hücre popülasyonunu ifade etmektedir. Bu çalışmalar aracılığıyla hücre kökenleri ve popülasyonları tanımlanabilmekte, birbirleriyle etkileşimleri, aktivasyonları değerlendirilebilmektedir. Ayrıca, gerek hücreler gerekse immünregülasyon ile klinik parametreler ve mikrobiyal faktörler arasında bağlantı kurulabilmektedir. İmmün sistemin nasıl bir mekanizmayla işlediğinin ve bu mekanizmaların ne zaman koruyucu, ne zaman yıkıcı rol oynadığının anlaşılabilmesi de bu çalışmalara bağlıdır. Söz konusu çalışmalar, periodontal hastalığın bölgeye özgü olması düşüncesine dayanılarak daha çok lokal seviyede gerçekleştirilmiş ve dişeti lezyonundaki enflamatuvar infiltrat incelenmiştir. Bu alanda yürütülen ilk araştırmalardan biri Liljenberg ve Lindhe (67) tarafından juvenil periodontitis hastaları üzerinde yürütülmüş ve hücresele infiltratın B lenfositlerden oluştuğu ileri sürülmüştür. Daha sonra gerçekleştirilen araştırmalarda bu infiltratın yalnızca B lenfositlerden ibaret olmayıp B ve T hücrelerini birlikte içerdiği gösterilmiştir (55, 56, 116, 129). Son 25 yıllık dönemde periodontal hastalık tipi, aktivitesi, lokalizasyonu ve uygulanan tedavi gibi değişkenlerle dokudaki hücresele infiltratın fenotipik özelliklerinin araştırıldığı birçok çalışma sonucunda hastalığın erken dönemlerinde T hücrelerinin , ileri dönemlerinde ise B lenfosit ve plazma hücrelerinin daha yoğun olduğu sonucuna varılmıştır (33, 54, 116). Ancak, immün

regülasyon sadece bu, hücrel immüniteden sıvısal immüniteye dönüşümden ibaret olacak kadar basit görülmemektedir (137).

Hücrel immünitenin efektör hücreleri olan yardımcı / uyarıcı (CD4+) ve baskılayıcı / sitotoksik (CD8+) T lenfositler hücrel immün yanıtta başka sıvısal immün yanıt ve nonspesifik enflamatuar reaksiyonları da yönlendirebildikleri için immünregülasyonda merkezi role sahiptirler. Yardımcı T hücrelerin baskılayıcı T hücrelere oranı (T4/T8) ise immün sistem fonksiyonlarına ait önemli bir gösterge olarak kabul edilir. Periodontal hastalıkta etkili olan immünregülasyon mekanizmalarının belirlenebilmesi için, bu oranın lokal ve sistemik düzeyde araştırılmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Bugün gelinen noktada, periodontal hastalık lezyonlarındaki ve periferik kandaki CD4+/CD8+ oranının doğası yönünden henüz bir fikir birliği oluşturulamamıştır. Bu amaçla, dişeti dokusu düzeyindeki çalışmalar doku ekstraktları veya doku kesitleri üzerinde yürütülmektedir. Okada ve arkadaşları (88), Taubman ve arkadaşları (136) ile Cole ve arkadaşları (27) periodontitis hastalarında hücre ekstraksiyon tekniğini kullanarak çalışmışlar ve T4/T8 oranını sağlıklı dokudan düşük bulmuşlardır. Hücre ekstraksiyon teknikleri hücrelerin dağılımı ve lokalizasyonu hakkında bilgi vermemekte üstelik ekstraksiyon işlemleri sırasında hücrelerin bir kısmı zarar görebilmektedir (91). Bu nedenle, doku kesitlerinde gerçekleştirilen immünohistokimyasal boyama teknikleri tercih edilmektedir. Doku kesitlerinde yürütülen çalışmalardan bir kısmı lezyondaki T4/T8 oranını sağlıklı dokudan düşük olduğunu bildirirken (40, 55, 56, 59, 128, 129), diğer bir kısmı bu oranda artış olduğundan söz etmektedir (20, 83, 131). Bu arada, farklı periodontitis gruplarında söz konusu oran yönünden anlamlı fark bulunmadığını ileri süren çalışmalar da vardır (82, 102). Çalışmamızda elde edilen immünohistokimyasal sonuçlara göre, erişkin periodontitis ve erken yerleşen periodontitis grupları bu oran yönünden farklılık göstermiştir.

Periferik kanda ise T hücrelerinin fenotipik analizi, immünfloresan mikroskop veya flow sitometri cihazı aracılığıyla yapılabilmektedir. Stashenko ve arkadaşları (126)nın yanısıra Çelenligil ve arkadaşları da (20, 21, 22) uygun monoklonal antikolar ve immünfloresan mikroskop ile çalışmışlar ve erişkin periodontitis, erken yerleşen periodontitis ve sağlıklı kontrol grupları arasında periferik kandaki T4/T8 oranı yönünden anlamlı fark bulamamışlardır. Flow

sitometrik araştırmalardan bir kısmı hasta gruplarındaki oranı sağlıklıdan yüksek (2, 134), bir kısmı sağlıklıdan düşük (61) bildirirken diğer bir kısmı da arada anlamlı fark olmadığını öne sürmüştür (90, 151). Çalışmamızda saptanan flow sitometrik değerler periodontitis ve sağlıklı kontrol grupları arasında söz konusu oran yönünden fark olmadığını göstermektedir. Ancak literatürle uyumlu olarak hasta gruplarındaki bireysel varyans sağlıklıdan yüksek bulunmuştur.

Böyle farklı sonuçların elde edilmesine, seçilen çalışma tekniğinin etkisi olabileceği gibi, çalışmaya dahil edilen hasta grupları, hatta bir hasta grubu içinde yer alması olası altgrupların varlığı da yol açmış olabilir. Bunlardan başka; hücre sayımı yapılan bölgelerin lokalizasyonu ve alan seçimi de sonuçları etkileyebilecek faktörlerdir. Burada akla gelebilecek bir başka faktör ise; "*hastalık aktivitesidir*". Ancak Reinhardt ve arkadaşları (102) idame programındaki erişkin periodontitis hastalarından aktif, stabil ve sağlıklı bölgelere ait dişeti biyopsileri alarak mononükleer hücre infiltrasyonu ve CD4+/CD8+ oranını birbirleriyle ve kan sonuçlarıyla kıyaslamış ve doku ile kan arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Bu çalışmada aktif - stabil - sağlıklı bölgeler arasında ve bir bölgedeki sulkuler üçlü - orta üçlü - oral üçlü şeklinde lokalize edilen sayım alanları yönünden de bir fark gözlenmemiştir. Yine Reinhardt ve arkadaşlarının (103) yaptıkları bir başka çalışmada, T lenfositlerin fenotipik özelliklerinin yanısıra aktiviteleri de değerlendirilmiş ve periodontal hastalığın aktif olduğu bölgelerde immün sisteme ait aktif hücrelerin daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Doku sonuçlarında gözlenen bireysel varyasyon ve bu varyasyonun periodontitis gruplarında sağlıklı gruptan daha yüksek olması, dişeti enflamasyonuna yol açan faktörlerin belirli hücrelerden köken almasına ve enflamatuar mediatörlerin etkilerinin de belirli hücrelere yönelik olmasına bağlanabilir (35). Diğer yandan, histopatolojik ve immünohistokimyasal çalışmalarda homojen ve standart bir dağılım beklemek doğru olmaz. Özellikle, ileri derecede lokalize bir hastalık olan periodontitis lezyonlarının değerlendirilmesi sırasında bu konunun göz önünde bulundurulması gereklidir.

Çalışmamızda dokuda sayım yapılan üç ayrı lokalizasyona ait sonuçlara korelasyon analizi uygulanarak, farklı fenotipik özellikteki hücrelerin birbirleriyle ve lokalizasyon ile ilişkileri araştırılmıştır. Genel olarak tüm hasta gruplarında, CD2+hücrelerin hem CD4+ hem de CD8+ hücreler ile korelasyonlu olduğu



bulunmuştur. Bu korelasyonlar, T lenfosit trafiğinin genel prensipleriyle uyumludur ve bir T lenfosit aktivasyonuna işaret etmektedir. Elde ettiğimiz sonuçları klinik parametrelerle kıyasladığımızda, T lenfositlerin ve altgruplarının infiltrasyonu plak indeksi ve gingival indeks ile de pozitif korelasyon göstermiştir. Bu ilişki, artan plak miktarının daha fazla lenfositik infiltrasyona sebep olmasına bağlanabilir. Ayrıca, söz konusu orandaki artış Meng ve Zheng (82) ile Malberg ve arkadaşlarının (79) da bildirdikleri gibi kliniğe, daha belirgin bir enflamasyon şeklinde yansır. Daha önce Okada ve arkadaşları (89) da yaptıkları çalışmada periodontal hastalığın klinik parametrelerinden olan cep derinliği ve kemik kaybı miktarını dişetindeki CD4+/CD8+ oranı ile kıyaslamışlar ve arada bir ilişki bulamamışlardır. Çalışmamızın bulguları bu araştırmacıların sonuçlarıyla paralellik gösterdiği gibi, söz konusu oran ile ataşman kaybı arasında da bir ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda sayım yapılan üç bölgeye ait sonuçların eşleştirilmiş t testi aracılığıyla kıyaslanması ise; erişkin periodontitis grubunda ikinci ve üçüncü bölgelerdeki yardımcı / baskılayıcı T lenfosit oranında anlamlı fark ortaya koymuştur. İkinci bölgedeki yardımcı T hücrelerin nispeten fazla olmaları plak bakterilerinin sebep olduğu uyarının cep tabanı yakınındaki bu bölgede daha etkili olmasına bağlanabilir. Diğer hasta gruplarında ve sağlıklı kontrol grubunda ise böyle bir fark bulunmamıştır.

Bilindiği gibi, T lenfositlerin tamamı CD2 yüzey antijeni taşırlar. Buna ek olarak bir kısım T hücresi CD4, bir kısım T hücresi ise CD8 antijenlerini de bulundurur. Teorik olarak CD4+ ve CD8+ hücre toplamının CD2+ hücre sayısına eşit olması beklenir. Ancak çalışmamızdan elde ettiğimiz immünohistokimyasal sonuçlara göre, CD4+ ve CD8+ hücre toplamının CD2+ hücrelerden fazla olduğu gözlenmiştir. Arka arkaya alınan doku kesitlerinde bile morfometrik sonuçların birbirinden oldukça farklı olabileceği bilinmektedir (55). Üç boyuta sahip olan hücrenin iki boyutlu bir kesit düzleminde yer alabilmesi kesitin yönüne ve kalınlığına bağlıdır. Aynı iki kesitte aynı hücrenin görülebilme şansı ise; kesit kalınlığına ve kesitler arasındaki seviye farkına göre değişir. Bizim çalışmamız sırasında, hedef hücrelerin tümünde aynı renk ve biçimde boyanma olacağı için her yüzey antijenine yönelik ayrı lam üzerine alınan kesitlerde boyama yapılmıştır. Her lama 4-6µm kalınlıkta 3-4 kesit alınması ile birbirini izleyen toplam 12-16 kesit

elde edilmiştir. İlk alınan kesit ile son alınan kesit arasında yaklaşık 48-96µm seviye farkı olması anlamını taşıyan bu durum, doğal olarak kesitlerde sayılabilen hücre sayısının büyük farklılık göstermesine sebep olabilmektedir. Bu sorunun ortadan kaldırılabilmesi için aynı kesit üzerinde farklı yüzey antijenlerine karşı antikorlarla boyamanın yapılabildiği "double stain" kitler kullanılabilir (55). Kullanılan her primer antikor için birbirini izlemeyen ve rastlantısal olarak seçilen çok sayıda kesitte hücre sayımı yapılması bu sorunun aşılmasında başvurulabilecek bir başka yöntemdir (145). Ancak, bu yöntem hem çok malzeme gerektirmesi ve dolayısıyla pahalı olması hem de çok zaman alması nedeniyle pratik güçlükler taşımaktadır.

Çalışmamıza dahil edilen sağlıklı kontrol grubu ile erişkin ve erken yerleşen periodontitis gruplarında elde edilen doku sonuçları birbiriyle kıyaslandığında, sağlıklı grupta daha fazla T lenfosit infiltrasyonu göze çarpmaktadır. Reinhardt ve arkadaşları da (102) benzer bulgular bildirmişlerdir. Bu, aslında beklenmeyen bir sonuçtur. Ayrıca, klinik olarak sağlıklı dişetinde bile önemli derecelerde lenfositik infiltrasyon bulunduğu (29, 64) hatta yer yer izole infiltrasyon odakları olabileceği (38) daha önce de bildirilmiştir. Bu durum biyopsi alınmasından önce bölgede kolonize olabilmiş plağa bağlanabilir. Genel olarak ağız-diş sağlığı bilincinin tatminkar düzeyden oldukça uzak olduğu toplumumuzda, düzenli ev bakımı ve yeterli plak kontrolü yapılmaması nedeniyle histolojik anlamda sağlıklı dişeti biyopsilerinin elde edilmesi oldukça güçtür. Etik kaygıların da eklenmesiyle bu tür çalışmalarda sağlıklı kontrol grubunun oluşturulmasındaki problemler ortaya çıkmaktadır. Bizim çalışmalarımız sırasında katılan tüm bireylere çalışmanın amaçları ve yöntemi hakkında bilgi verilerek katılım onayları alınmıştır. Ancak bazı hastalar, özellikle sağlıklı kontrol grubunda yer alacak olan bireyler, böyle bir işlemi reddetmişlerdir. Sağlıklı gruba dahil edebilmek için sondlama derinliğinin 3mm yi aşmaması, klinik ve radyografik olarak ataşman kaybı tesbit edilmemesi ve sondlamada kanama olmaması koşulları aranmıştır. Klinik indekslerin bir kez kaydedilmesi nedeniyle biyopsinin alındığı gün ilgili bölgedeki plak indeks değerinin düşük olması genel plak kontrolüne dair yeterli bilgi verememektedir. Ortalama plak indeksinin kaydedilen bu değerden yüksek olmasına bağlı olarak dişetinde hafif derecede de olsa, bir enflamasyon ve lenfositik hücre infiltrasyonu görülebilir. Üstelik sondlamada kanama yokluğu her zaman hastalık aktivitesinin

olmadığını göstermeye yetmediği gibi, hastalığın aktif olduğu alanlarda %30-70 oranında kanama olduğu bildirilmiştir (46, 103).

Sağlıklı kontrol grubunda T lenfosit infiltrasyonunun yüksek bulunmasının bir başka nedeni de sayım yöntemi olabilir. Burada amaç histopatolojik değerlendirmeden ziyade, CD4+/CD8+ oranının hesaplanması olduğu için sayım yapılacak mikroskop alanı olarak seçilen yoğun infiltrasyon bölgelerinin istenen lokalizasyon sınırları içinde yer almasına dikkat edilmiştir. Sağlıklı gruptaki infiltrasyon alanlarının periodontitis gruplarının aksine yaygın ve yoğun olmayıp seyrek ve odaklar halinde olduğu görülmüştür. Hücre sayım işlemlerinin tamamlanmasından sonra kesitler tekrar değerlendirildiğinde özellikle sağlıklı kontrol grubunda sayım için seçilen alanların bu infiltrasyon odaklarına rastladığı, bu odakların bir kısmının perivasküler sahalar olduğu ve bu odaklarda yapılan sayım işlemlerinin doğal olarak yüksek lenfosit infiltrasyonu bulunmasına yol açmış olabileceği düşünülmüştür.

Sağlıklı kontrol grubunda da hasta gruplarında da infiltrasyon yoğunluğu hemen hemen tüm olgularda üçüncü bölgede en az, ikinci bölgede ise en fazla görülmektedir. Reinhardt ve arkadaşlarının (102) bulgularıyla uyumlu olan bu sonuç subgingival plağın lenfositik hücre infiltrasyonundaki etkisine dikkat çekmektedir. Erişkin periodontitis ve erken yerleşen periodontitis gruplarındaki T lenfosit infiltrasyonunun sağlıklı gruptan genellikle az olması, bu lezyonlarda T hücrelerinden çok B lenfositlerin ve plazma hücrelerinin yoğun olmasına da bağlanabilir (67). Ancak bu durumun, B lenfositlere karşı uygun antikor kullanılarak saptanması gereklidir. Böylece B lenfositlerin de kantitatif analizi yapılabilir ve T/B oranı hesaplanabilir. Daha önce de sözü edilen ekonomik nedenlerden ötürü bu çalışmada sadece T hücrelerine yönelik immünohistokimyasal inceleme yapılabilmıştır.

Newman-Keuls testi aracılığıyla ( $p < 0.05$ ) çalışma gruplarının birbiriyle kıyaslanması üç bölgeye ait ortalama CD4+/CD8+ oranının erişkin periodontitiste erken yerleşen periodontitisten daha düşük olduğunu ve arada anlamlı fark bulunduğunu göstermiştir. Bu sonuç, Syrjanen ve arkadaşlarının (131) bulgularıyla uyumludur. Erken yerleşen periodontitiste kısmen CD4+ hücrelerin rölatif artışına, kısmen de CD8+ hücrelerin rölatif azalmasına bağlı olan bu durum, juvenil periodontitis ve hızlı ilerleyen periodontitis hastalarında lokal immünregülasyonun

erişkin periodontitisten farklı olabileceğini düşündürmektedir. Söz konusu fark, daha az mikrobiyal plak varlığına rağmen daha hızlı doku yıkımı oluşmasında rol oynayan bir faktör olabilir.

Periodontal dokularda etkili olan bu lokal enflamatuar reaksiyonların sistemik durumlarla ilişkisinin olup olamayacağı periodontal hastalıkların immünopatogeneze ait önemli bir araştırma konusu olmuştur. Ayrıca sistemik düzeyde periferik kanda saptanabilecek değişiklikler ile periodontal hastalık arasında bir sebep - sonuç ilişkisinin kurulup kurulamayacağı ve kan tablosundaki değişikliklerin hastalığın sebeplerinden mi yoksa sonuçlarından mı kaynaklanmış olabileceği ise başka bir tartışma konusudur (85).

Bu çalışmada , pan T hücrelerini belirlemek amacıyla dokuda anti-CD2 antikorunu kanda ise anti-CD3 antikorunu kullandık. Bu seçimin özel bir sebebi olmayıp alınan kitlerin içeriklerine bağlı olarak böyle bir fark doğmuştur. Ancak, CD2 ve CD3 yüzey antijenlerinin her ikisi de olgun T lenfositleri tanımlamak amacıyla kullanıldığı için sonuçlarımızın değerlendirilmesi yönünden bir önem taşımamaktadır. Çalışmamızda erişkin periodontitis, juvenil periodontitis ve hızlı ilerleyen periodontitis hasta gruplarında ve sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda elde edilen flow sitometrik kan analiz sonuçları, CD3+ ve CD4+ hücreler arasında pozitif korelasyon gösterirken, CD4+ ve CD8+ hücreler arasında negatif korelasyon bulunmuştur. CD3+ ile CD4+ arasındaki pozitif korelasyon T hücrelerinde bir aktivasyon olduğunu düşündürmektedir. Bunun yanısıra, CD4+ hücrelerle CD8+ hücreler arasındaki ilişki gerçek bir negatif bağlantı anlamını taşımasa da hücrelerden birisi artarken diğerinin de artmasının beklenemeyeceğini ifade etmektedir.

Periferik kan analizinde, dokuda kullandığımız antikorlara ek olarak T lenfosit aktivasyon belirteçleri olan anti-HLA-DR ve anti-IL-2R antikorları da dahil edilmiştir. Böylece, aktif T hücrelerinin belirlenmesi amacıyla sırasıyla interlökin 2 reseptörünün p55 olarak adlandırılan komponentini tanımlayan anti-CD25 antikor ve anti-CD3 ile birlikte anti-DR antikor kullanılmıştır. Sonuç olarak, bu aktivasyon belirteçleri yönünden pozitif boyanan hücreler ile CD4+ hücreler arasında belirgin pozitif korelasyon bulunmuştur. Elde edilen bu korelasyonlar; yardımcı T hücrelerinin aktivasyonu arttıkça yüzeyindeki aktivasyon belirteçlerinin artması ve bu belirteçlerin de proliferasyonu uyarıcı etkileri aracılığıyla ortamda

daha çok yardımcı T hücresi bulunmasını sağladıkları görüşü ile açık bir uyum içindedir.

Periferik kan lenfositlerinin fenotipik ve fonksiyonel özellikleri ile ilgili olarak bugüne dek yapılmış olan çalışmalar, birbirinden farklı sonuçlar ortaya koymuştur. Stashenko ve arkadaşları (126) erişkin periodontitis ile sağlıklı bireyler arasında periferik kan CD4+/CD8+ (T4/T8) oranı yönünden benzerlik bulurken hasta grubundaki bireysel değişkenliğin sağlıklı gruba göre fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuç; Chen ve arkadaşlarının (23) juvenil periodontitis ile sağlıklı bireyleri kıyasladıkları çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur. Buna karşılık Kornman ve arkadaşları (63) maymunlarda gerçekleştirdikleri deneysel periodontitis modelinde periferik kan CD4+/CD8+ oranında azalma saptamışlardır. Hızlı ilerleyen periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarının dahil edildiği bir başka çalışmada Katz ve arkadaşları (60) 4 hızlı ilerleyen periodontitis hastasında kontrol grubundan yüksek, 5 hastada ise kontrol grubundan düşük T4/T8 oranları belirlemişlerdir. Bu sonuçlar bir taraftan bireysel varyans yüksekliğine dikkat çekerken diğer taraftan da periodontal hastalık ile periferik kan lenfositlerinin fenotipik özellikleri arasında belirgin bir ilişki bulunmadığını göstermektedir. İleri periodontitiste lokal enflamatuvar reaksiyonlar ve immün regülasyon sapmaları periodontal lezyonlarla sınırlı olup periferik kan lenfositlerine yansımamaktadır (15).

Çelenligil ve arkadaşları (21) da juvenil periodontitis ve hızlı ilerleyen periodontitis hastalarından alınan periferik kan örneklerinde CD3+, CD4+, CD8+, HLA-DR+ ve IL-2R+ hücreleri normal sınırlar içinde ve sağlıklı bireylerden farksız düzeyde bulmuşlardır. Bu sonuç, Kinane ve arkadaşlarının (61) elde ettikleri sonuçlarla çelişkilidir. Buna karşılık erişkin periodontitiste sistemik düzeyde CD4+, B lenfosit (CD20+), CD3+ hücrelerde artış bildiren çalışmalar da vardır (2).

Afar ve arkadaşları (2) erişkin periodontitis hastalarında yaptıkları periferik kan analizinde aktif hücrelerin sağlıklı kontrolden fazla olduğunu ancak arada istatistiksel yönden anlamlı fark bulunmadığını bildirmişlerdir. Lenfosit aktivasyonu ile periodontal hastalık aktivitesi arasında bir bağlantı olup olmayacağı ise henüz belirlenmemiştir. Diğer taraftan Çelenligil ve arkadaşları (21) söz konusu aktivasyon belirteçleri yönünden erken yerleşen periodontitis

hastaları ile sağlıklı kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptayamamışlar ve sistemik dolaşımda aktif hücrelerin bulunmadığını ileri sürmüşlerdir.

Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlara göre, periferik kan lenfosit popülasyonları ve aktivasyonları yönünden erişkin ve erken yerleşen periodontitis ya da sağlıklı kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark gözlenmemiştir. Sağlıklı bireylere ait B lenfosit oranı hasta gruplarından düşük olmakla birlikte istatistiksel önem taşımamaktadır. Bizim sonuçlarımız, en azından çalışma kapsamındaki belirteçler yönünden periodontitiste immün yanıtta rol alan lenfosit alt gruplarına ait bir sistemik hücresel bozukluk olmadığı görüşünü (134) desteklemektedir. Sonuç olarak, T4/T8 ile belirlenen immünregülasyonun lokal ve sistemik bulguları arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır. Bu çalışmada incelenen immün sistem parametrelerinin periodontal hastalık patogenezinin katkıları tartışmalı bir konu olmaya devam etmektedir. Bilindiği gibi, periodontal hastalıklar dentisyonun tümünü birden etkilemeyip bölgeye özgünlük gösterirler. Çalışmamızda özellikle hasta gruplarında ve lokal bulgularda daha belirgin olmak üzere, incelenen parametreler yönünden bireysel varyans yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, Clarke ve Hirsch (26) tarafından öne sürülen bireysel risk faktörleri yönünden anlamlı olabilir. Ayrıca, periodontopatojenlere karşı spesifik T lenfosit alt gruplarının lokal ve sistemik düzeyde incelenmesi hasta gruplarında sağlıklı bireylere göre önemli farklılıklar ortaya koyabilir. Diğer yandan, lenfositlerin fenotipik ve fonksiyonel özelliklerinin longitudinal çalışmalar aracılığıyla değerlendirilmesinin periodontal hastalığın farklı evrelerindeki duruma ait bilgi sağlayacağı ve immünopatogenezin aydınlatılmasına katkıda bulunacağı görüşündeyiz.

## 5. ÖZET

Mikrobiyal dental plağa ait virülans faktörleri periodontal hastalıkların başlıca sebebinin oluşturmaktadır. Sağlıklı halde, patojenik organizmalar ve konak savunma sistemi arasında bir denge mevcuttur. Bu dengenin virülans faktörleri lehine bozulmasıyla hastalık ortaya çıkar. Mikrobiyal plak ile konak immün sistem faktörleri arasındaki etkileşimler ve enflamatuar periodontal hastalıkların ortaya çıkmasında kritik role sahiptirler.

Periodontal hastalıkların etyopatogenezine dair bilgilerimiz giderek genişlemekle birlikte, immün sistemin bu konuya katkıları henüz tam olarak açıklanabilmiş değildir. Yapılan birçok araştırma konak direncinin koruyucu ya da yıkıcı etkileri yönünde bulgular sunmaktadır. Sıvısal ve hücrel mekanizmalar aracılığıyla spesifik immüniteyi oluşturan periodontal hastalığa ait dişeti lezyonlarında veya periferik kanda incelenmesi ile immünopatogenez açıklanmaya çalışılmaktadır.

Bu çalışmaya erişkin periodontitis, juvenil ve hızlı ilerleyen periodontitis tanısı konmuş olan toplam 47 hasta ve sağlıklı kontrol grubu olarak da 17 birey dahil edilmiştir. Tüm bireylerden herhangi bir periodontal tedaviye başlamadan önce dişeti biyopsileri ve periferik kan örnekleri alınmıştır. Doku kesitlerinde, bugün en hassas tekniklerden olduğu bilinen alkalen fosfataz anti-alkalen fosfataz tekniği ile anti-CD2, anti-CD4 ve anti-CD8 primer antikoları kullanılarak boyama yapılmış ve boyanan hücreler üç ayrı alanda sayılmıştır. Kan örnekleri ise iki renkli flow sitometri yöntemi ile analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara korelasyon analizi, eşleştirilmiş t testi, tek yönlü varyans analizi ve Newman-Keuls testleri uygulanmıştır.

Hematoksilen ve eosin ile boyanan ve histopatolojik olarak incelenen kesitlerde özellikle cep epiteli bölgesinde yoğunlaşmış olan enflamatuar infiltratın varlığı tesbit edilmiştir.

Doku kesitlerinde yapılan incelemelerde tüm olgularda çeşitli miktarlarda enflamatuar infiltrat görülürken CD2+, CD4+ ve CD8+ lenfositlerin uyarılmış oldukları belirlenmiştir. Hücre sayımı yapılan üç ayrı lokalizasyonun ortalamaları

alındığında, erken yerleşen periodontitisin erişkin periodontitis ve sağlıklı kontrol gruplarından farklı özellikler taşıdığı görülmüştür.

Periferik kan örneklerinde ise CD3, CD4, CD8, CD19, CD25 ve HLA-DR antijenlerine karşı uygun monoklonal antikolar kullanılmıştır. Yapılan flow sitometrik analizler test ve kontrol gurupları arasında bu parametreler yönünden, anlamlı bir fark olmadığını ortaya koymuştur.

Periodontal hastalıkların, imminopatogenezinin aydınlatılabilmesi amacı ile, longitudinal çalışmalar yapılarak, hastalığın farklı evrelerindeki durumun araştırılmasının, gerekli olduğuna inanıyoruz. Ayrıca, periodontopatojenlerce uyarılmış, spesifik lenfositlerin analizi de bu konuya önemli katkılar sağlayabilir.





## 6. SUMMARY

It's well known that, the virulence factors of microbial dental plaque are the main causes of periodontal diseases. In health, there is a balance, between these virulence factors and the host immune system. Yet, an imbalance in favour of the virulence factors, leads to the disease occurrence. The interactions between microbial plaque and host immune system play a critical role in the initiation and progression of periodontal diseases.

Although there is an increasing amount of knowledge regarding with the etiopathogenesis of periodontal disease, related influences of the immune system still have to be evaluated. Several studies have brought evidences of protective or destructive function of the immune system. Through the humoral and cellular mechanisms, lymphocytes undertaken in order to evaluate those mechanisms in periodontal disease tissues and in peripheral blood.

This study was carried out in order to investigate the local and systemic lymphocyte populations and subpopulations in different forms of periodontal disease. The results of test groups were compared statistically with each other and with those of the healthy control group. A total of 47 adult and early onset periodontitis patients as well as 17 healthy control subjects were included in the study. Before initiation of any kind of periodontal treatment, gingival biopsies and samples of peripheral blood were secured. On the frozen tissue sections alkaline phosphatase-anti alkaline phosphatase kit system-which is one of the most sensitive techniques available-was used to identify the CD2+,CD4+,CD8+ lymphocytes. The positively stained cells were counted in three different areas in each biopsy. The peripheral blood samples were analysed by two-colour flow cytometry. The results obtained were tested statistically by means of correlation analysis, paired t test, one way variance analysis and Newman-Keuls test.

The histopathological evaluation showed various amounts of inflammatory infiltrate in all cases including the healthy control group. The significant correlation among the CD2+, CD4+ and CD8+ cells indicated an activation of T cells. When the mean values obtained from the three areas were compared between the groups, the early-onset group showed different characteristics.

The peripheral blood analyses showed no significant alteration on the CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD25+ and HLA-DR+ cells. The test groups and the control group showed similar blood values which are in normal limits.

Longitudinal studies are needed to evaluate the lymphocyte profiles in various stages of periodontal disease. Moreover, the specific lymphocytes sensitised to the periodontopathogens should be studied both locally and systemically.



## 7.KAYNAKLAR

1. **Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS.** Cellular and molecular immunology. WB Saunders Company, 1991
2. **Afar B, Engel D, Clark EA.** Activated lymphocyte subsets in adult periodontitis. J Periodont Res. 27: 126-133, 1992
3. **Anusaksathien O, Dolby AE.** Autoimmunity in periodontal disease. J Oral Pathol Med. 20:101-107, 1991
4. **Astemborski JA, Boughman JA, Myrick PO et al.** Clinical and laboratory characterization of early onset periodontitis. J Periodontol 60:557-563, 1989
5. **Beck JD, Lainson PA, Field HM, Hawkins BF.** Risk factors for various levels of periodontal disease and treatment needs in Iowa. Community Dent Oral Epidemiol 12:17-22, 1984
6. **Birkedal - Hansen H.** Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. J Periodont Res. 28:500-510, 1993
7. **Blankenstein R, Murrey JJ, Lind OP.** Prevalance of chronic periodontitis in 13 to 15 year-old children. A radiographic study. J Clin Periodontol 5:285-292, 1978
8. **Boenisch T.** Handbook of immunocytochemical staining methods.DAKO Corp. 1993
9. **Brostoff J, Scadding GK, Male D, Roitt IM.** Clinical immunology. Gower Medical Pub. 1991
10. **Brown LJ, L e H.** Prevalance, extent, severity and progression of periodontal disease. Periodontology 2000 Vol.2 57-71, 1993
11. **Brown LJ, Oliver RC, L e H.** Evaluating periodontal status of US employed adults. J Am Dent Assoc. 121:226-232, 1990
12. **Brown LJ, Oliver RC, L e H.** Periodontal diseases in the US in 1981; prevalance, severity, extent and role in tooth mortality. J Periodontol 60:363-370, 1989
13. **Burkitt HG, Young B, Heath JW.** Wheater's functional histology. A text and colour atlas. Third edition Churchill Livingstone 1993
14. **Burmeister JA, Best AM, Pakanis KG, Caine FA, Ranney RR.** Localised juvenile periodontitis and generalized severe periodontitis: clinical findings. J Clin Periodontol 11:181-192, 1984

15. **Burt BA.** Future patterns in periodontal disease. In: Contemporary periodontics eds. Genco RJ, Goldman HM, Cohen DW ss. 696-704 St.Louis: CV Mosby, 1990
16. **Burt BA.** The distribution of periodontal destruction in the populations of industrialized counties. In: Risk markers for oral diseases. Periodontal diseases: Markers of disease susceptibility and activity. ed. Johnson N. pp 9-26 Cambridge: Cambridge University Press 1991
17. **Campbell AM.** Monoclonal antibody and immunosensor technology. Elsevier pp.97-113 1991
18. **Caton J.** Periodontal diagnosis and diagnostic aids. In: Nevins M, Becker W, Kornman K ed. Proceedings of the world workshop in clinical periodontics. Princeton NJ:AAP I-1 to I-4, 1989
19. **Çelenligil H, Kansu E, Ruacan Ş, Eratalay K, Çağlayan G.** Immunohistochemical analysis of gingival lymphocytes in adult periodontitis. J Clin Periodontol 17: 542-548, 1990
20. **Çelenligil H, Kansu E, Eratalay K, Yavuzylmaz E.** Prepubertal periodontitis. A case report with an analysis of lymphocyte populations. J Clin Periodontol 14:85-88, 1987
21. **Çelenligil H, Kansu E, Eratalay K.** Juvenile and rapidly progressive periodontitis. Peripheral blood lymphocyte subpopulations . J Clin Periodontol. 17: 207-210, 1990
22. **Çelenligil H, Kansu E, Ruacan Ş, Eratalay K.** Papillon- Lefevre syndrome. Characterization of peripheral blood and gingival lymphocytes with monoclonal antibodies. J Clin Periodontol 19:392-397, 1992
23. **Chen P, Park B, Genco RJ.** Immunologic profile of patients with juvenile periodontitis. J Dent Res. 62: 273, Abstract 933, 1983
24. **Christersson LA, Slots J, Zambon JJ, Genco RJ.** Transmission and colonization of A.a. in localized juvenile periodontitis patients. J Periodontol 56:127-131, 1985
25. **Clark WB, Løe H.** Mechanisms of initiation and progression of periodontal disease. Periodontology 2000 Vol.2: 72-82, 1993
26. **Clarke NG, Hirsch RS.** Personal risk factors for generalized periodontitis. J Clin Periodontol 22:136-145, 1985
27. **Cole KL, Seymour GJ, Powell RN.** Phenotypic and functional analysis of T cell extracted from chronically inflamed human periodontal tissues. J Periodontol 58:567-573, 1987
28. Consensus report, discussion section I.In:Nevins M, Becker W, Kornman K ed. World Workshop in Clinical Periodontics Princeton NJ:AAP I-23 to I-31, 1989
29. **Cooper PG, Caton JG, Polson AM.** Cell populations associated with gingival bleeding. J Periodontol 54: 497-502, 1983
30. **Cutress TW, Powell RN, Ball ME.** Differing profiles of periodontal disease in two similar South Pacific island populations. Community Dent Oral Epidemiol. 10:193-203, 1982

31. **Cuttress W, Ainamo J, Sardo Infirri J.** The CPITN procedure for identifying periodontal treatment needs in individuals and populations. *Int Dent J* 37:222-233, 1987
32. **Dahlen G.** Role of suspected periodontopathogens in microbiological monitoring of periodontitis. *Adv Dent Res* 7:163-174, 1993
33. **Davenport RH, Simpson DM, Hassell TM.** Histometric comparison of active and inactive lesions of advanced periodontitis *J Periodont Res* 53:285-295, 1982
34. **Davies RM, Smith RG, Porter SR.** Destructive forms of periodontal disease in adolescents and young adults. *Br Dent J.* 158: 429-435, 1985
35. **Dolby AE.** Cellular and soluble mediator components of the local immune response to dental plaque. *J Clin Periodontol.* 13: 928-931, 1986
36. **Donlon WC.** Immunology in dentistry. *JADA* 100:220-231, 1993
37. **Ebersole JL, Taubman MA.** The protective nature of host responses in periodontal diseases. *Periodontology 2000* Vol.5 pp.112-141, 1994
38. **Engelberger T, Hefti A, Kallenberger A, Rateitschak KH.** Correlations among papilla bleeding index, other clinical indices and histologically determined inflammation of gingival papilla. *J Clin Periodontol* 10:579-589, 1983
39. **Gangler P, Göbel B, Kurbad A, Kosa W.** Assessment of periodontal disease and dental caries in a population survey using the CPITN, GPM/T and DMF/T indices. *Community Dent Oral Epidemiol* 16: 236-239, 1988
40. **Gemmell E, Seymour GJ.** Gamma delta T lymphocytes in human periodontal disease tissue. *J Periodontol* 66:780-785, 1995
41. **Genco RJ, Slots J.** Host responses in periodontal diseases. *J Dent Res* 63:441-451, 1984
42. **Genco RJ.** Classification and clinical and radiographic features of periodontal disease. In:Genco RJ, Goldman HM, Cohen DW editors. *Contemporary Periodontics* St.Louis: Mosby pp.63-81, 1990
43. **Genco RJ.** Pathogenesis and host responses in periodontal disease. In: *Contemporary periodontics.* eds. Genco RJ, Goldman HM. Cohen DW p.185 St.Louis: CV Mosby 1990
44. **Gillett IR, Johnson NW, Curtis MA, et al.** The role of histopathology in the diagnosis and prognosis of periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 17:673-684, 1990
45. **Goodson JM, Tanner ACR, Haffajee AD, Sornberger GC, Socransky SS.** Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 9:472-481, 1982
46. **Goodson JM.** Diagnosis of periodontitis by physical measurement: Interpretation from episodic disease hypothesis. *J Periodontol* 63:373-382, 1992

47. **Haffajee A, Socransky S, Dzink J et al.** Clinical, microbiological and immunological features of subjects with destructive periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 15: 240-246, 1988
48. **Haffajee AD, Socransky SS, Simithe Dibart S.** Relation of baseline microbial parameters to future periodontal attachment loss. *J Clin Periodontol* 18:744-750, 1991
49. **Han NM, Xiao XR, Zhang LS et al.** Bacteriological study of juvenile periodontitis in China. *J Periodont Res* 26:409-414, 1991
50. **Hansen B, Bjertness E, Gronnesby j.** A socio-ecologic model for periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 20: 584-590, 1993
51. **Hansen BF, Gjermo P, Bergwitz-Laresn KR.** Periodontal bone loss in 15 year-old Norwegians. *J Clin Periodontol* 11:125-132, 1984
52. **Hoover JN, Ellegard B, Attstrom R.** Periodontal status of 14-16 year-old Danish schoolchildren. *Scand J dent Res* 89:175-17, 1989
53. **Horton JE, Oppenheim JJ, Mergenhagen SE.** A role for cell-mediated immunity in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol* 45:351-360, 1974
54. **Joachim F, Banber P, Newman HN, Osborn J.** The plasma cell at the advancing front of the lesion in chronic periodontitis. *J Periodont Res.* 25:49-59, 1990
55. **Johannessen AC, Nilsen R, Knudsen GE, Kristofferson T.** In situ characterization of mononuclear cells in human chronic marginal periodontitis using monoclonal antibodies. *J Clin Periodontol* 21:113-127, 1986
56. **Johannessen AC, Nilsen R, Kristofferson T, Knudsen GE.** Variation in the composition of gingival inflammatory cell infiltrates. *J Clin Periodontol* 24:298-305, 1989
57. **Johnson NW, Curtis MA.** Preventive therapy for periodontal diseases. *Adv.Dent Res.* 8:337-348, 1994
58. **Johnson NW, Griffiths GS, Wilton JMA, et al.** Detection of high risk groups and individuals for periodontal diseases: Evidence for the existence of high risk groups and individuals and approaches to their detection. *J Clin Periodontol* 15:276-282, 1988
59. **Jully JM, Bene MC, Martin G, Faure G.** Immunohistological identification of cell subsets in human gingiva after local treatment for gingivitis or periodontitis. *J Clin Periodontol* 13:223-227, 1986
60. **Katz J, Goultschin J, Benoliel R, Schesinger M.** Peripheral T lymphocyte subsets in rapidly progressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 15: 266-268, 1988
61. **Kinane DF, Johnston FA, Evans CW.** Depressed helper to suppressor T cell ratios in early-onset forms of periodontal disease. *J Periodont Res.* 24:161-164, 1989
62. **Kiser JB.** Periodontics A Practical Approach Wright pp.12-18, 1990

63. **Kornman KS, Manti F, Goldschneider I.** Peripheral blood lymphocyte populations in ligature induced periodontitis. *J Periodont Res.* 17: 469-471, 1982
64. **Laurell L, Rylander H, Sundin Y.** Histologic characterization of clinically healthy gingiva in adolescents. *Scand J Dent Res* 95:456-462, 1987
65. **Lavelle CLB.** The immune response to oral infections. *Dental Update* January/ February 14-21, 1992
66. **Lehner T.** *Oral Diseases.* p.33 Blackwell Scientific Publications 1992
67. **Liljenberg B, Lindhe J.** Juvenile periodontitis. Some microbiological, histopathological and clinical characteristics. *J Clin Periodontol* 7:48-61, 1980
68. **Lindhe J, Hamp SE, Løe H.** Plaque induced periodontal disease in beagle dogs. A 4-year clinical radiographical and histological study. *J Periodont Res.* 10:243-255, 1975
69. **Lindhe J, Nyman S.** The effect of plaque control and surgical pocket elimination in the establishment and maintenance of periodontal health. A longitudinal study of periodontal therapy in cases of advanced disease. *J Clin Periodontol* 2:67-79, 1975
70. **Lindhe J.** *Textbook of clinical periodontology* Second edition Munksgaard, Copenhagen pp.181-89, 1992
71. **Listgarten MA.** Nature of periodontal diseases: Pathogenic mechanisms. *J Periodont Res.* 22: 172-178, 1987
72. **Listgarten MA.** Pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol* 13:418-425, 1986
73. **Løe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E.** Natural history of periodontal disease in man: Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14-46 years of age. *J Clin Periodontol* 13:431-440, 1986
74. **Løe H, Anerud A, Boysen H, Smith M.** Experimental gingivitis in man III. The influence of antibiotics on gingival plaque development *J Periodont Res* 2:282-289, 1967
75. **Løe H, Silness J.** Periodontal disease in pregnancy I. Prevalance and severity. *Acta Odontol Scand* 21:533-551, 1963
76. **Løe H, Theilade E, Jensen SB.** Experimental gingivitis in man *J Periodontol* 36:177-187, 1965
77. **Loesche WJ.** The specific plaque hypothesis and the antimicrobial treatment of periodontal disease. *Dental Update* March 68-72, 1992
78. **Mackler BF, Frostad KB, Robertson RB, Levy BM.** Immunoglobulinbearing lymphocytes and plasma cells in human periodontal disease. Lymphoid cells in periodontal disease. *J Periodont Res.* 12:37-45, 1977
79. **Malberg K, Mölle A, Streuer D, Gangler P.** Determination of lymphocyte populations and subpopulations extracted from chronically inflamed human periodontal tissues. *J Clin Periodontol* 19:155-158, 1992
80. **Marsh PD, Bradshaw DJ.** Microbial effects of new agents in dentifrices for plaque control. *Int Dent J* 43(Supp 1) 399-406, 1993

81. **Marsh PD.** Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 8:263-271, 1994
82. **Meng HX, Zheng LF.** T cells and T-cell subsets in periodontal disease. *J Periodont Res.* 24:121-126, 1989
83. **Modeer T, Dahllöf G, Axio E, Sadqvist K-G.** Subpopulations of lymphocytes in connective tissue from adolescents with periodontal disease. *Acta Odontol Scand* 48:153-159, 1990
84. **Moore WEC, Moore LH, Ranney RR, et al.** The microflora of periodontitis sites showing active destructive progression. *J Clin Periodontol* 18:729-739, 1991
85. **Nagai A, Takahashi K, Sato N et al.** Abnormal proportion of gamma delta T cells in peripheral blood is frequently detected in patients with periodontal disease. *J Periodontol* 64: 963-967, 1993
86. **Newman HN.** Plaque and chronic inflammatory periodontal disease. A question of ecology. *J Clin Periodontol* 17:533-541, 1990
87. **Offenbacher S, Collins JG, Arnold RR.** New clinical diagnostic strategies based on pathogenesis of disease. *J Periodont Res.* 28:523-535, 1993
88. **Okada H, Kassai Y, Kida T.** T-lymphocyte subsets in the inflamed gingiva of human adult periodontitis. *J Periodont Res* 19: 595-598, 1984
89. **Okada H, Shimabukuro Y, Kassai Y, et al .** The function of gingival lymphocytes on the establishment of human periodontitis. *Adv Dent Res* 2:364-367, 1988
90. **Okada H.** Phenotypic and functional characterization of peripheral blood T cells in adult periodontitis. *J Periodont Res.* 26:289-292, 1991
91. **Okada H.** T cell functions in periodontal diseases. In: *Periodontal disease: Pathogens & host immune responses.* Ed. Hamada S, Holt SC, McGhee JR Quintessence Publishing Co. Ltd. Tokyo pp. 223-235, 1991
92. **Oliver RC, Brown LJ.** Periodontal diseases and tooth loss. *Periodontology* 2000 Vol.2 pp 117-127, 1993
93. **Page RC, Altman LC, Ebersole JL et al.** Rapidly progressive periodontitis. A distinct clinical condition. *J Periodontol* 54:197-209, 1983
94. **Page RC, Schroeder HE.** Periodontitis in man and other animals. p.330 Basel, S Karger and co. 1982
95. **Page RC.** Severe forms of periodontitis in children, juveniles and adults. In: *Risk markers for oral diseases. Periodontal diseases: Markers of disease susceptibility and activity.* ed.Johnson N. pp.76-105 Cambridge: Cambridge University Press 1991
96. **Page RC.** The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Perodont Res.* 26:230-242, 1991
97. **Page RC.** Critical issues in periodontal research. *J Dent Res.* 74:1118-1128, 1995
98. **Pilot T, Barnes DE, Leclercq MH, McComble BJ, Sardo Infirri J.** Periodontal conditions in adults, 35-44 years of age: An overview of CPITN



data in the WHO Global Oral Data Bank. *Community Dent Oral Epidemiol.* 14:310-312, 1986

99. **Ranney RR.** Classification of periodontal diseases. *Periodontology* 2000 , Vol.2 pp.13-25, 1993
100. **Ranney RR.** Immunologic mechanisms of pathogenesis in periodontal diseases: an assessment. *J Periodont Res.* 26:243-254, 1991
101. **Rees JS, Midda M.** Update on periodontology: 1. Current concepts in the histopathology of periodontal disease. *Dental Update* December 418-422, 1991
102. **Reinhardt RA, Bolton RW, McDonald TL, Dubois LM, Kaldahl WB.** In situ lymphocyte subpopulations from active versus stable periodontal sites. *J Periodontol* 59:656-670, 1988
103. **Reinhardt RA, McDonald TL, Bolton RW, et al.** In situ activated T lymphocytes in active versus stable periodontal lesions. *J Periodont Res.* 23:295-302, 1988
104. **Robinson G, Ellis IO, MacLennan KA.** Immunocytochemistry In: Theory and practice of histological techniques. Ed. Bascroff JD, Stevens A, Turner DR. Churchill Livingstone third edition pp. 413-436, 1990
105. **Roitt IM.** Essential immunology 2nd ed. Blackwell Scientific Pub. 1974
106. **Roitt I, Brostoff J, Male D.** Immunology Third edition Mosby 1993
107. **Sandholm L.** The cellular host response in juvenile periodontitis. *J Periodontol* 56:359-366
108. **Saxen L, Murtomaa H.** Age-related expression of juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* 12:21-26, 1985
109. **Saxen L.** Juvenile periodontitis *J Clin Periodontol* 7:1-9, 1980
110. **Saxen L.** Prevalance of juvenile periodontitis in Finland. *J Clin Periodontol* 7:177-186, 1980
111. **Scully C, Porter S, Mutlu S.** Changing subject based risk factors for destructive periodontitis. In: Risk markers for oral diseases. Periodontal diseases: Markers of disease susceptibility and activity. ed. Johnson N ss 139-178 Cambridge: Cambridge University Press 1991
112. **Seymour GJ, Crouch MS, Powell RN, et al.** The identification of lymphoid cell subpopulations in sections of human lymphoid tissue in gingivitis in children using monoclonal antibodies. *J Periodont Res.* 17:247-256, 1982
113. **Seymour GJ, Crouch MS, Powell RN.** The phenotypic characterization of lymphoid cell subpopulations in gingivitis in children. *J Periodont Res.* 16:582-592, 1981
114. **Seymour GJ, Gemmell E, Reinhardt RA, Eastcott J, Taubman MA.** Immunopathogenesis : cellular and molecular mechanisms. *J Periodont Res.* 28:478-486, 1993
115. **Seymour GJ, Powell RN, Cole KL, et al.** Experimental gingivitis in humans. A histochemical and immunologic characterization of the lymphoid cell subpopulations. *J Periodont Res.* 18:375-385, 1983

116. **Seymour GJ, Powell RN, Davies WIR.** Conversion of a stable T-cell lesion to a progressive B-cell lesion in the pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease. *J Clin Periodontol* 6:267-277, 1979
117. **Seymour GJ.** Importance of the host response in the periodontium. *J Clin Periodontol* 18: 421-426, 1991
118. **Shenker BJ.** Immunologic dysfunction in the pathogenesis of periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 14:489-498, 1987
119. **Silness J, L e H.** Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand.* 22:121-135, 1964
120. **Slots J, Taichman NS, Oler J, Listgarten MA.** Does the analysis of the subgingival microflora have value in predicting periodontal breakdown? In: *Periodontology Today*, ed. B. Guggenheim pp.132-140 Basel:Karger 1988
121. **Smalley JW.** Pathogenic mechanisms in periodontal disease. *Adv. Dent. Res.* 8:320-328, 1994
122. **Socransky SS, Haffajee AD, Goodson JM, Lindhe J.** New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 11:21-32, 1984
123. **Socransky SS, Haffajee AD.** Microbial mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal disease: a critical assessment. *J Periodont Res* 26: 195-212, 1991
124. **Socransky SS, Haffajee AD.** The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol* 63: 322-331, 1992
125. **Socransky SS, Haffajee AD.** Evidence of bacterial etiology: A historical perspective *Periodontology* 2000 Vol.5 pp. 7-25, 1994
126. **Stashenko P, Resmini RM, Haffajee AD, Socransky SS.** Helper and suppressor T cells in periodontal disease. *J Periodont Res* 20: 515-521, 1985
127. **Steidley KE, Thompson SH, McQuade MJ, et al.** A comparison of T4:T8 lymphocyte ratio in the periodontal lesion of healthy and HIV-positive patients. *J Periodontol* 63:753-756, 1992
128. **Stoufi ED, Taubman MA, Ebersole JL, Smith DJ, Stashenko PP.** Phenotypic analysis of mononuclear cells recovered from healthy and diseased periodontal tissues. *J Clin Immunol* 7:235-245, 1987b
129. **Stoufi ED, Taubman MA, Ebersole JL, Smith DJ.** Preparation and characterization of human gingival cells. *J Periodont Res* 22: 144-149, 1987a
130. **Suzuki JB.** Diagnosis and classification of the periodontal diseases. *Dental Clinics of North America* 32:195-216, 1988
131. **Syrjanen S, Markkanen H, Syrjanen K.** Inflammatory cells and their subsets in lesions of juvenile periodontitis. A family study. *Acta Odontol Scand.* 42:285-292, 1984
132. **Taichman N and Lindhe J.** Pathogenesis of plaque-associated periodontal disease. In: *Textbook of clinical periodontology* ed. Lindhe J pp.153-192 Copenhagen: Munksgaard 1989

- 133. Taichman NS, Tsai C-C, Shenker BJ et al.** Neutrophil interactions with oral bacteria as a pathogenic mechanism in periodontal diseases. In: Weissman G, ed *Advances in inflammation research* Vol.8, New York Raven Press, 113-142, 1984
- 134. Takahashi K, Nagai A, Satoh N, Kurihara H, Murayama Y.** Studies on the phenotypic and functional characterization of peripheral blood lymphocytes from patients with early-onset periodontitis. *J Periodontol.* 66: 391-396, 1995
- 135. Takahashi K, Takigawa M, Hara H et al.** Clinical and laboratory studies on a patient with early onset periodontitis and her family members. A case report. *J Periodontol* 66: 403-412, 1995
- 136. Taubman MA, Stoufi ED, Ebersole JL, Smith DJ.** Phenotypic studies of cells from periodontal disease tissues. *J Periodont Res.* 19:587-590, 1984
- 137. Taubman MA, Wang HY, Lundquist CA, et al.** The cellular basis of host responses in periodontal diseases. In: *Periodontal disease : Pathogens & host immune responses.* Ed. Hamada S, Holt SC, McGhee JR Quintessence Publishing Co. Ltd. Tokyo pp. 199-208, 1991
- 138. Theilade E, Wright WH, Jensen SB, Løe H.** Experimental gingivitis in man II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation *J Periodont Res* 1:1-13, 1966
- 139. Theilade E.** The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 13: 905-911, 1986
- 140. Tizard IR.** *Immunology An Introduction.* WB Saunders Co. 1988
- 141. Ünlü F, Gürses N.** Ana Hatlarıyla Periodontoloji Ege Üniversitesi Basımevi 1995 (The Periodontic Syllabus by Fedi PF. Williams and Wilkins, 1989)
- 142. Ünlü F.** Periodontal dokuların sağlıklı ve hastalıklı durumlarında B lenfositlerin ve immünoglobülin değerlerinin karşılaştırmalı incelenmesi. Doktora Tezi 1985
- 143. Van der Velden U, Abbas F, van Steenberg TJ et al.** Prevalance of periodontal breakdown in adolescents and presence of A.a. in subjects with attachment loss. *J Periodontol* 60:604-610, 1989
- 144. Van Dyke TE, Lester MA, Shapiro L.** The role of the host response in periodontal disease progression: implications for future treatment strategies. *J Periodontol* 64:792-806, 1993
- 145. Verwer RWH, Raber-Durlacher JE.** Efficient and unbiased estimation of volume and area of tissue components and cell number in gingival biopsies. *J Periodont Res.* 28:313-323, 1993
- 146. Waerhaug J.** Subgingival plaque and loss of attachment of periodontosis as evaluated on extracted teeth. *J Periodontol* 48: 125-130, 1977
- 147. Williams RC.** Periodontal disease. *New Eng J Med* 322: 373-382, 1990
- 148. Wolfe MD, Carlos JP.** Periodontal disease in adolescents: Epidemiologic findings in Navajo Indians. *Community Dent Oral Epidemiol.* 15:33-40, 1987

- 149. Yamazaki K, Nakajima T, Aoyagi T, Hara K.** Immunohistological analysis of memory T lymphocytes and activated B lymphocytes in tissues with periodontal disease. *J Periodont Res.* 28: 324-334, 1993
- 150. Yang MCK, Marks RG, Clark WB, Magnusson I.** Prediction power of various models for longitudinal change. *J Clin Periodontol* 19:77-83, 1992
- 151. Zafirooulos GGK, Flores -de- Jacoby L, Schoop B, Havemann K, Heymanns J.** Flow-cytometric analysis of lymphocyte subsets in patients with advanced periodontitis. *J Clin Periodontol* 17:636-641, 1990
- 152. Zappa U.** Histology of the periodontal lesion: implications for diagnosis. *Periodontology* 2000 Vol.7 pp.22-38, 1995



## 8. ÖZGEÇMİŞ

1967 yılında Isparta'da doğdum. 1984-1985 öğretim yılında Bornova Anadolu Lisesi'nden mezun oldum. 1989-1990 öğretim yılında Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi'nden dişhekimliği diplomamı aldım ve aynı yıl Periodontoloji Anabilim Dalında doktora programına başladım. 1992 yılından bu yana aynı kürsüde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. 1992 yılında üç ay süreyle İngiltere Bristol Dişhekimliği Fakültesinde bulundum. Bugüne kadar 9 bilimsel kongreye katıldım. Çeşitli kongrelerde 4 tebliğ sundum, 5 makalem ve 1 çeviri kitabım yayınlandı.