

**AGRESİF, KRONİK PERİODONTİTİSLİ VE SAĞLIKLI BİREYLERİN DİŞETİ DOKUSU
ÖRNEKLERİNDEKİ MONOSİT KEMOATRAKTAN PROTEİN-1 (MCP-1) POZİTİF
HÜCRELERİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ****IMMUNOHISTOCHEMICAL INVESTIGATION OF MONOCYTE CHEMOATTRACTANT
PROTEIN-1 (MCP-1) POSITIVE CELLS IN GINGIVAL TISSUE SAMPLES OF AGGRESSIVE,
CHRONIC PERIODONTITIS AND HEALTHY CONTROL PATIENTS****Bülent KURTİŞ*****Gülay TÜTER*****Gülnur TAKE†****İlke Pelin SOFUOĞLU‡****Canan YAZICI§****Deniz ERDOĞAN||****Belgin BAL¶****ÖZET**

Amaç: Bu çalışmanın amacı, agresif periodontitisli (AgP), kronik periodontitisli (KP) ve periodontal olarak sağlıklı kontrol (SK) bireylerinin dişeti dokusu örneklerindeki Monosit Kemoatraktant Protein-1 (MCP-1) pozitif hücreleri immünohistokimyasal bazda karşılaştırmalı olarak değerlendirerek MCP-1 in periodontal hastalıklardaki fonksiyonel rolünü incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya sistemik yönden sağlıklı ve generalize tip kronik periodontitis tanısı konmuş 6 hasta ve generalize tip agresif periodontitis tanısı konmuş 6 hasta dahil edilmiştir. Kontrol grubunu ise yine sistemik ve periodontal yönden sağlıklı 6 birey oluşturmuştur. Klinik olarak; plak indeksi, gingival indeks, sondlanabilen cep derinliği ve klinik ataşman kaybı ölçümleri kaydedilmiştir. AgP ve KP gruplarındaki dişeti dokusu örnekleri periodontal tedavi başlangıcında, üst çene anterior bölgeden (maksiller kanin-kanin arası ve 1. premolar dişler), SK grubundan ise yine üst çenede anterior bölgede kron boyu uzatma veya ortodontik amaçlı çekim endikasyonu konulmuş 1. premolar dişlerin servikal dişeti bölgelerinden insizyonel biyopsi tekniği kullanılarak alınmıştır. Dişeti dokusu örnekleri % 10 luk nötral formalinde 72 saat tespit edilmiş, daha sonra yıkanarak alkol serilerinden geçirilmiş ve parafinle gömülerek blok haline getirilmiştir. Parafin bloklarda polilizinli camlar üzerinde 4-5 µm kalınlığında kesitler elde edilmiştir. Takiben uygulanan immünohistokimyasal işlemler sonucunda örnekler foto ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir.

Bulgular: Verilerin analizine göre, klinik indeksler yönünden tüm gruplar arasında istatistiksel fark bulunmuştur (p<0.001). İmmünohistokimyasal olarak, MCP-1 ile boyanan epitel hücreleri yönünden hastalıklı gruplar arasında istatistiksel olarak fark yokken, kontrol grubu ile her iki hastalıklı grup arasında fark görülmüştür (p<0.01). MCP-1 ile boyanan bağ dokusu hücreleri ve fibrilleri yönünden ise her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0.01).

Sonuç: İnflamasyonun artışına ve periodontal yıkıma paralel olarak dişeti dokusu MCP-1 düzeylerinin de arttığı ve bu artışın periodontal hastalık patogenezinde rol oynadığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Periodontitis, dişeti dokusu, monosit kemoatraktant protein-1

SUMMARY

Objective: The aim of this study is to investigate the functional role of MCP-1 in periodontal diseases by comparative determining of MCP-1 positive cells at immunohistochemical level in gingival tissue samples obtained from aggressive periodontitis (AgP), chronic periodontitis (CP) and healthy control (HC) patients.

Material and Method: 6 patients diagnosed as systemically healthy and generalized chronic periodontitis, and 6 patients diagnosed as generalized aggressive periodontitis were included in this study. The control group is consisted of systemically and periodontally healthy 6 patients. Clinically; plaque index, gingival index, probing depth and clinical attachment loss measurements were performed. Human gingival tissue specimens were obtained from upper anterior area (maxillary incisors, canine and first premolar teeth) for AgP and CP groups at the beginning of periodontal therapy and tissue specimens for HC group was obtained from the crown lengthening

Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, 03/2002-23 Türk Periodontoloji Derneğinin 35. Periodontoloji Kongresi'nde poster bildiri olarak sunulmuştur.

* Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Doç. Dr.

† Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Anabilim Dalı, Yrd. Doç. Dr.

‡ Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Dt.

§ Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Dr.

|| Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Anabilim Dalı, Prof. Dr.

¶ Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Prof. Dr.

(maxillary incisors and canine teeth) or tooth extraction (first premolar teeth) sites due to orthodontic reasons. The gingival tissue samples were fixed in 10 % neutral buffered formaline for 72 hours, then washed, passed through graded alcohol series for dehydration and embedded in parafine. Sections of 4-5 µm thickness were obtained from parafine blocks and placed on polylysine coated glass slides. After immunohistochemical procedures, the samples were examined under inverted light microscope.

Results: Data analysis revealed statistically significant difference among all groups according to clinical indices ($p < 0.001$). Immunohistochemically, while there was no statistically significant difference between diseased groups with regard to levels of MCP-1 positive epithelial cells, differences were observed between control group and both of diseased groups ($p < 0.01$). Statistically significant differences were found in view of the levels of MCP-1 positive connective tissue cells and fibers among all of the 3 groups ($p < 0.01$).

Conclusion: It was suggested that parallel to the increasing of the inflammation and periodontal breakdown, gingival tissue levels of MCP-1 were also increased and this increasing could play a role in the pathogenesis of periodontal diseases.

Key words: Periodontitis, gingival tissue, monocyte chemoattractant protein-1

Makale Gönderiliş Tarihi : 14.11.2005

Yayına Kabul Tarihi: 30.01.2006

GİRİŞ

Bakteriyel ürünlerin stimülasyonu altında monosit/makrofajlar, lenfositler ve lokal olarak bölgede sürekli bulunan hücreler; örneğin fibroblastlar ve vasküler endotelial hücreler farklı tiplerde sitokin sentezi yaparlar. Bu sitokinler pro-inflamatuar aktivitelere sahip olup periodontal dokuların yıkımında önemli rol oynamaktadırlar^{6,11}.

Düşük moleküler ağırlıklı, indüklenebilen, pro-inflamatuar sitokinler grubu kemokinler olarak isimlendirilmektedir. Bu sitokin ailesi üyelerinin kemoatraktan özelliği olduğu ve farklı lökosit gruplarını aktive ettiği gösterilmiştir¹⁸. Grup üyeleri C-X-C ve C-C olmak üzere iki alt grup altında incelenmektedir.

C-X-C grubu;

1. İnterlökin- 8 (IL-8),
2. Melanoma growth stimulating faktör (GRO/ MGSA),
3. Platelet faktör-4 (PF-4),
4. Beta tromboglobülin (β -TG), gibi sitokinleri içermektedir.

C-C grubu ise;

1. Monosit kemoatraktan protein - 1 (MCP-1),
2. Makrofaj inflammatuar protein -1 α (MIP-1 α),
3. Makrofaj inflammatuar protein -1 β (MIP-1 β),
4. RANTES, gibi proteinlerden oluşmaktadır.

Genel olarak kemokin C-X-C grubu üyeleri nötrofilleri aktive ederken, C-C grubu üyeleri sıklıkla monositler veya T lenfositler için kemotaktiktirler. Kemotaktik faktörlerin üretimi inflamasyonun önemli bir göstergesidir^{2,4,18}.

MCP-1'in arteriosklerozis¹⁵, idiyopatik pulmoner fibrozis¹, tümörler⁷, romatoid artiritler, osteoartiritler¹⁷ ve deri-

deki gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonları¹⁹ gibi kronik inflamasyonla karakterize hastalıklarda salgılandığı belirlenmiştir. MCP-1'in sirküle olan monositlerin spesifik kemotaksisini indüklediği ve bu indüksiyonun monositlerin yüzeylerindeki mevcut spesifik reseptörler vasıtasıyla meydana geldiği bildirilmiştir⁸.

Mikroorganizma endotoksinlerine ilaveten interlökin-1 β (IL-1 β) ve tümör nekroz faktör - α (TNF- α) gibi bazı sitokinlerin de, monositlerden MCP-1 ekspresyonunu stimüle ettiği tespit edilmiştir³. Dişeti hastalıklarında inflame dokulardaki hücreler tarafından ortama salınan MCP-1'in rolü sirküle olan monositlerin kemotaksisini indüklemektir. Monosit / makrofajlar tarafından MCP-1 ekspresyonunun yapılması ilave mononükleer fagositlerin bölgeye gelmesini sağlayarak inflammatuar cevabın geliştirilmesine yardımcı olmaktadır⁹.

Bu çalışmanın amacı, agresif periodontitisli (AgP), kronik periodontitisli (KP) ve periodontal olarak sağlıklı kontrol grubu (SK) bireylerin dişeti dokusu örneklerindeki Monosit Kemoatraktan Protein-1 (MCP-1) pozitif hücreleri immunohistokimyasal bazda karşılaştırmalı olarak değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza, Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na dişeti hastalıkları şikayeti nedeniyle başvuran, sistemik yönden sağlıklı ve generalize tip kronik periodontitis tanısı konmuş 6 hasta (4 erkek, 2 kadın; yaş ortalaması 38.50) ve generalize tip agresif periodontitis tanısı konmuş 6 hasta (1 erkek, 5 kadın; yaş ortalaması 30.66) dahil edilmiştir. Kontrol grubunu ise yine sistemik ve periodontal yönden sağlıklı 6 birey (3 erkek, 3 kadın; yaş ortalaması 31.16) oluşturmuştur.

Periodontitisli hastaların seçiminde klinik olarak sondlanabilen cep derinliği ve ataşman kaybı ölçümleri ve radyografik olarak alveoler kemik kaybı lokalizasyonları

ve düzeyleri dikkate alınmıştır. Ayrıca tüm hastaların sistematik olarak sağlıklı, sigara kullanmayan, son altı ay içerisinde periodontal tedavi görmemiş ve antiinflamatuvar / antibiyotik ilaç kullanmamış olmasına dikkat edilmiş olup, Gazi Üniversitesi Etik Kurul prensipleri dahilinde bilgilendirilmiş olarak onayları alınmıştır.

Klinik olarak; Plak İndeksi¹⁶ (PI), Gingival İndeks¹³ (GI), sondlanabilen cep derinliği (CD) ve klinik ataşman kaybı (AK) ölçümleri kaydedilmiştir. Tüm parametreler milimetrik kalibre edilmiş Williams sondu kullanılarak ölçülmüştür.

Dişeti Dokusu Örneklerinin Alınması ve İmmünohistokimyasal Yöntem

Dişeti dokusu örnekleri AgP ve KP grubuna dahil hastalardan faz I periodontal tedavi başlangıcında lokal anestezi altında, üst anterior keser-kanin dişler ve 1. premolar dişler etrafında ENAP tarzında insizyonel biyopsi tekniği kullanılarak alınmıştır. Sağlıklı kontrol grubunda ise, kron boyu uzatma (üst anterior keser ve kanin dişler) veya ortodontik amaçlı çekim endikasyonu konulmuş 1. premolar dişlerin servikal dişeti bölgelerinden alınmıştır.

Alınan dişeti dokusu örnekleri % 10 luk nötral formalinde 72 saat tespit edilmiş, daha sonra yıkanarak artan dereceli alkol serilerinden geçirilmiş ve dehidrate edilmiştir. İmmersiyoyn yağı ve ksilol serilerinden geçirilerek şeffaflandırılan örnekler parafine gömülerek blok haline getirilmiştir. Parafin bloklarda polylizinli camlar üzerinde 4-5 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Camlar ksilol ve alkol ile deparafinize ve dehidrate edildikten sonra % 3'lük hidrojen peroksit (Lab Vision Corp., USA) ile endojen peroksidaz aktivitesi ile bloke edilmiştir. İşlem sonrasında PBS (phosphate buffer saline) (pH=7.4) ile camlar yıkanmıştır. Ultra V block (Zymed Lab., USA) ile non-spesifik bağlanmaların engellenmesi sağlanmıştır. Bu işlemlerden sonra kesitlere MCP-1 primer antikor (poliklonal anti-goat Ig), (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA) uygulanarak 1 gece +4 °C'da oda ısısında bekletilmiştir. Süre sonunda PBS ile yıkanan camlara biyotinli sekonder antikor (Santa Cruz, anti-goat) eklenerek primer antikora bağlanması sağlanmıştır. PBS ile yıkanan camlar enzim kompleksine (Streptavidin peroksidaz) (Zymed Lab., USA) etkin bırakılmıştır, böylece camlarda enzimin biyotine bağlanması sağlanmıştır. Son olarak ortama DAB (3,3 diaminobenzidin) (Lab Vision Corp., USA), kromojeni eklenerek gözle görülebilir ürünün ortaya çıkması sağlanmıştır. Zemin boyası olarak Mayer'in hemotoksileni kullanılmıştır (Lab Vision Corp., USA). Negatif boyama primer antikor aşamasında yapılmıştır. Hazırlanan camlar entellan yardımıyla lamelle kapatılıp, foto ışık mikroskopunda kalitatif ve

kantitatif olarak incelenmiştir. Dokuların immünohistokimyasal değerlendirilmeleri, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Kantitatif değerlendirmeler, histolojik kesitlerde negatif tutulum: 0, zayıf dereceli tutulum: 1, orta dereceli tutulum: 2, kuvvetli dereceli tutulum: 3 olarak sayısal değerlere çevrilmiş ve daha sonra elde edilen veriler ile istatistiksel incelemeler yapılmıştır.

İstatistiksel Analiz: Değişkenlerin homojenitesi Levene testi ile kontrol edilmiş ve bulgular, ANOVA (tekyönlü varyans analizi) ve değişkenin Kruskal-Wallis tekyön analizi ile değerlendirilmiştir. Daha sonra gruplar arası karşılaştırmalar Duncan ve Dunn testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar gözlem sayısı açısından (n), Ortalama ±SEM ($\bar{x} \pm S \bar{x}$), ortalama sınır, çeyrekler [(R, (25th - 75th))] açısından değerlendirilmiştir. P değerinin 0.05'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analiz SPSS 11.5 ve MINITAB 13.0 kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

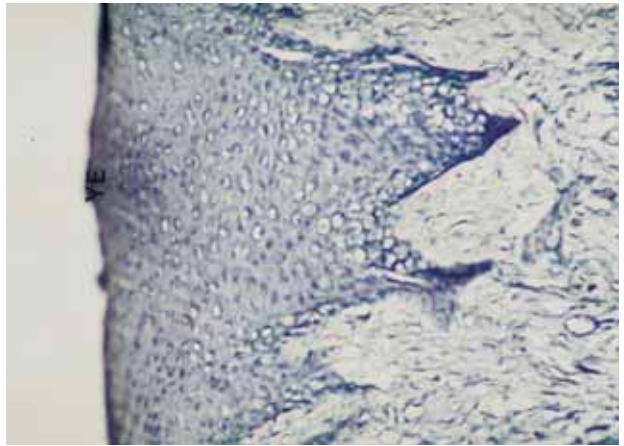
BULGULAR

Klinik Bulgular

Gruplar arası PI, GI, CD ve AK skorları Tablo I'de verilmiştir. Verilerin analizine göre, klinik indeksler yönünden tüm gruplar arasında istatistiksel fark bulunmuştur (p<0.001).

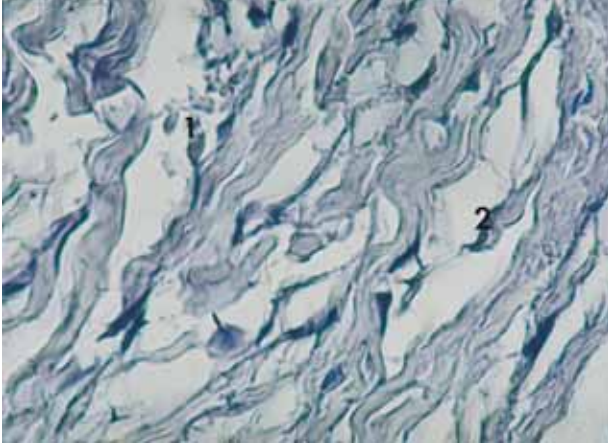
Kalitatif İmmünohistokimyasal Bulgular

Yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda SK grubunda negatiften zayıfa değişen bir tutulum saptanmıştır. Mukoza epitelinde bazal ve orta katmanlarda reaktivite izlenmezken, yüzeyel bölgede MCP-1 reaktivitesi dikkat çekmiştir (Resim 1). Büyük büyültmeli incelemelerde bağ

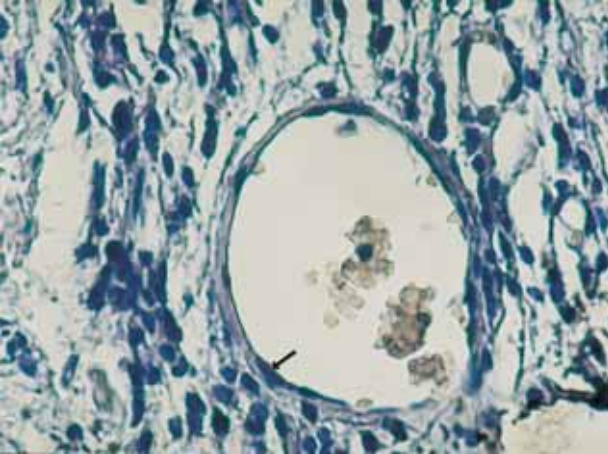


Resim 1. Kontrol grubu. YE: İmmünoreaktivite gösteren yüzey epiteli (İmmünoperoksidase & Hematoksilin x 100).

dokuya ait bazı hücrelerde reaktivite izlenmezken, bazılarında zayıf tutulum gözlenmiştir. Bağ doku lifleri boyanmamıştır (Resim 2). Damar endotel hücrelerindeki tutulum da bağ doku hücrelerine benzerlik göstermekte olup, lümeneye bakan bölgede membranöz olarak izlenmiştir. Damar düz kas hücrelerinde MCP-1 reaktivitesi gözlenmiştir (Resim 3).



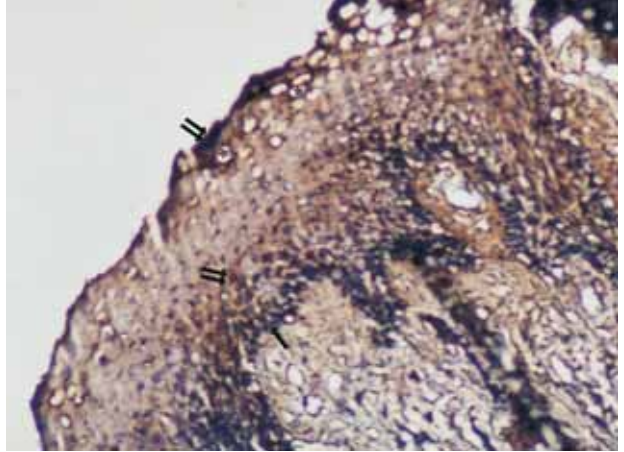
Resim 2. Kontrol grubu. 1: Zayıf membranöz tutulum gösteren bağ dokusu hücreleri, 2: Orta dereceli membranöz tutulum gösteren bağ dokusu hücreleri (İmmünoperoxidase & Hematoksilen x 400).



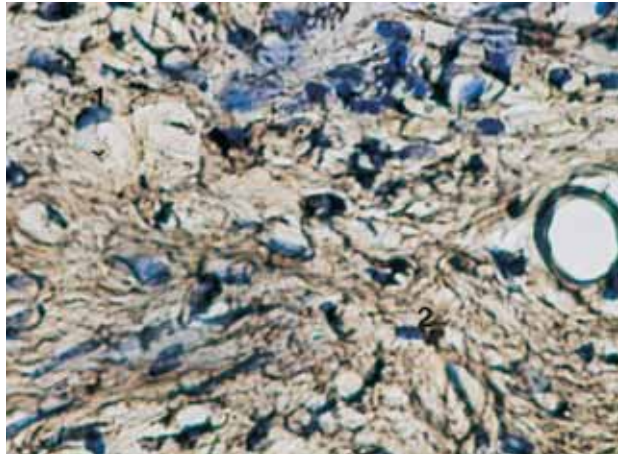
Resim 3. Kontrol grubu. Ok: Damar lümenine bakan bölgede endotel hücre membranöz immünoaktivitesi (İmmünoperoxidase & Hematoksilen x 400).

KP grubu incelendiğinde doku genelinde diffüz, orta dereceli MCP-1 reaktivitesi ilgi çekiciydi ve mukoza epitelinde genel olarak vakuoler bir görüntü hakimdi. Bu yapısal değişikliklerin yüzeysel bölgelerde daha belirgin olduğu saptanmıştır. Mukoza epitelinde MCP-1 immünoaktivitesi açısından değerlendirildiğinde, bazal katman hücrelerinde son derece zayıf tutulum gözlenirken, orta ve yüzeysel katmanlarda yaygın sitoplazmik bir tutulum izlen-

miştir (Resim 4). Büyük büyültmeli incelemelerde bazı alanlarda bağ doku hücrelerinde zayıf tutulum izlenirken, bir grupta orta dereceli membranöz ve sitoplazmik tutulum ilgi çekiciydi. Damar endotel hücrelerinde orta dereceli sitoplazmik, kuvvetli membranöz tutulum belirlenmiştir. Bağ doku liflerinde de MCP-1 varlığı saptanmıştır (Resim 5).



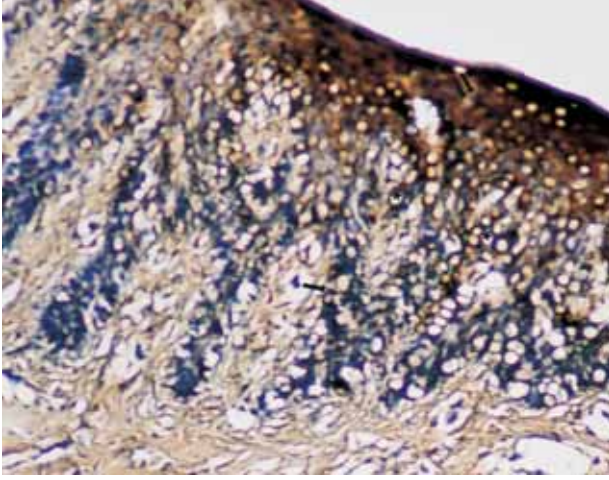
Resim 4. KP Grubu. *: Vakuoler hücreler. Tek ok: Zayıf immünoaktivite gösteren epitel bazal hücreleri. Çift ok: Yaygın sitoplazmik tutulum gösteren orta ve yüzeysel epitelyal katman hücreleri (İmmünoperoxidase & Hematoksilen x 100).



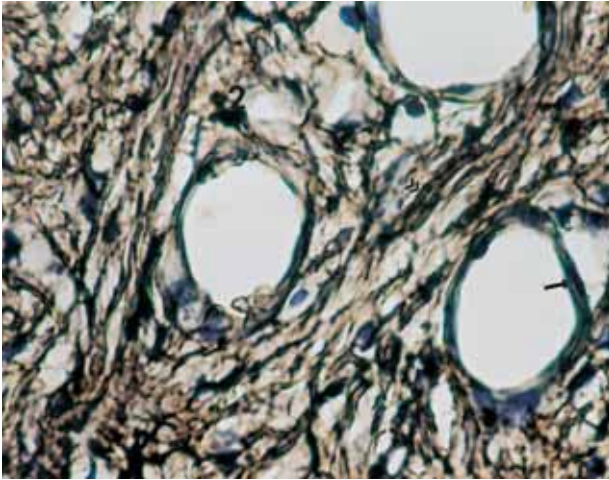
Resim 5. KP Grubu. 1: Zayıf reaktivite gösteren bağ dokusu hücreleri. 2: Orta dereceli reaktivite gösteren bağ dokusu hücreleri. Ok başı: Bağ dokusu liflerinde orta dereceli MCP-1 tutulumu (İmmünoperoxidase & Hematoksilen x 400).

AgP grubunda, doku genelinde diffüz, ortadan kuvvetliye değişen bir tutulum izlenmiştir. Mukoza epitelinde biyopsi genelinde dejeneratif değişiklikler saptanmıştır. Epitel hücrelerinde, bazal hücrelerden yüzeysel hücrelere kadar tüm katmanlarda vakuoler bir yapı gözlenmiştir. MCP-1 immünoaktivitesi epitelin bazal katmanını oluş-

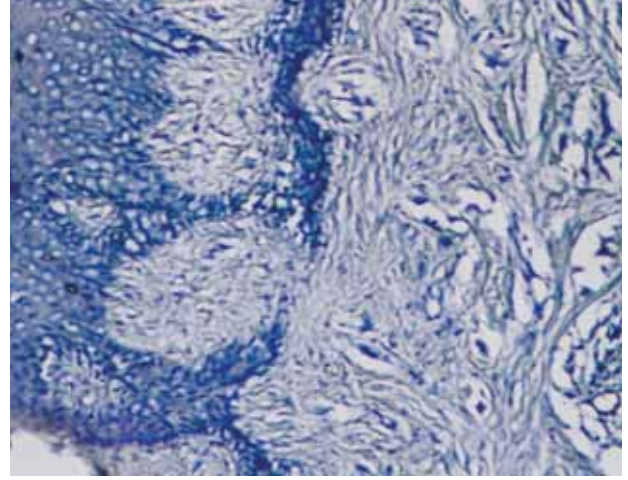
turan hücrelerde zayıf membranöz olarak izlenirken, yüze doğru ortadan kuvvetliye arttığı ve bu hücrelerde hem sitoplazmik hem de membranöz tutulum olduğu belirlenmiştir (Resim 6). Büyük büyültmeli incelemelerde bağ doku hücrelerinde diffüz kuvvetli sitoplazmik ve membranöz reaktivite izlenmiştir. Damar endotel hücrelerindeki tutulum bazı damarlarda negatif iken, bazılarında orta dereceli sitoplazmik kuvvetli membranöz olarak tespit edilmiştir. Bağ doku lifleri de MCP-1 ile boyanmıştır (Resim 7). Kontrol amaçlı yapılan negatif boyamalarda epitel, bağ doku ve bağ dokuda bulunan damarların hiçbir elemanında boyanma olmadığı izlenmiştir (Resim 8).



Resim 6. AgP Grubu. *: Vakuoler hücreler. Tek ok: Zayıf immünoreaktivite gösteren epitel bazal hücreleri. Çift ok: Yaygın sitoplazmik tutulum gösteren epitel hücreleri (İmmünoperoxidase & Hematoksilin x 100).



Resim 7. AgP Grubu. 2: Kuvvetli reaktivite gösteren bağ doku hücreleri. Tek ok: Orta dereceli sitoplazmik, kuvvetli membranöz immünoreaktivite gösteren endotel hücreleri. Çift ok başı: Kuvvetli MCP-1 tutulumu (İmmünoperoxidase & Hematoksilin x 400).



Resim 8. İmmünoreaktivite izlenmeyen negatif kontrol grubu (İmmünoperoxidase & Hematoksilin x 100).

Kantitatif İmmünohistokimyasal Bulgular

MCP-1 ile boyanan epitel hücreleri yönünden hastalıklı gruplar arasında istatistiksel olarak fark yokken, kontrol grubu ile heriki hastalıklı grup arasında fark görülmüştür ($p < 0.001$). MCP-1 ile boyanan bağ dokusu hücreleri ve bağ dokusu fibrilleri yönünden ise her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.001$). Vasküler endotelial hücreler yönünden ise KP grubu diğer iki gruptan istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Sonuçlar Tablo II'de gösterilmiştir.

Tablo I. Klinik indeks skorlarının gruplararası karşılaştırması.

	KP Grubu X ± Sx n = 6	AgP Grubu X ± Sx n = 6	SK Grubu X ± Sx n = 6	P değeri
Plak	2.287±0.127***	1.475±0.0935***	0.000±0.000***	p < 0.001
İndeks(PI)	[15.50, (1.95-2.60)]	[9.50, (1.33-1.63)]	[3.50, (0.00-0.00)]	
Gingival	1.807±0.087***	2.158±0.092***	0.000±0.000***	p < 0.001
İndeks(GI)	[10.17, (1.66-1.99)]	[14.83, (1.98-2.41)]	[3.50, (0.00-0.00)]	
Cep	4.287±0.194***	6.185±0.248***	1.040±0.007***	p < 0.001
Derinliği(CD)	[9.50, (3.96-4.63)]	[15.50, (5.71-6.86)]	[3.50, (1.02-1.06)]	
Ataşman	4.868±0.177***	7.097±0.515***	0.000±0.000***	p < 0.001
Kayıb(AK)	[9.50, (4.58-5.42)]	[15.50, (5.94-8.33)]	[3.50, (0.00-0.00)]	

*** : p<0.001

Tablo II. MCP-1 ile immünoreaktivite gösteren hücresel elemanların gruplararası karşılaştırması

	SK Grubu X ± Sx n = 6 (R, Quart)	KP Grubu X ± Sx n = 6 (R, Quart)	AgP Grubu X ± Sx n = 6 (R, Quart)	P değeri
Epitel	2.167±0.477	6.000±0.258	5.833±0.307	SK-KP p<0.01 SK-AgP p<0.01 KP-AgP İÖ
Hücreleri	[3.5, (1.00-3.25)]	[12.92, (5.75-6.25)]	[12.08, (5-6.25)]	
Bağ Doku	2.000±0.365	4.000±0.365	6.667±0.211	p<0.01 p<0.01 p<0.01
Hücreleri	[3.83, (1.00-3.00)]	[9.17, (3.00-5.00)]	[15.5, (6.00-7.00)]	
Bağ Doku	1.167±0.167	2.667±0.211	4.333±0.333	p<0.01 p<0.01 p<0.01
Fibrilleri	[3.67, (1.00-1.25)]	[9.67, (2.00-3.00)]	[15.17, (3.75-5.00)]	
Vasküler	2.333±0.333	6.167±0.307	3.000±0.683	p<0.01 İÖ p<0.01
Endotelial	[6.00, (1.75-3.00)]	[15.33, (5.75-7.00)]	[7.17, (1.75-5.00)]	
Hücreler				

İÖ: İstatistiksel olarak önemsiz.

TARTIŞMA

Son yıllarda kemokinlerin, lökositler için kemoatraktan olma ve lökositlerden kemokin reseptör salımı gibi fonksiyonları ile inflamasyon sürecindeki önemi üzerinde durulmaktadır¹⁰. Fakat kemokinlerin periodontitis olgularındaki ilişkilerine yönelik sınırlı bilgi bulunmaktadır. Periodontitisin agrezif formunda polimorfonükleer lökositler ve monositlerde bozulmuş kemotaktik fonksiyonların bulunduğu tespit edilmiş ve bu defektlerin mikrobiyal enfeksiyonlar nedeniyle indüklenmediği veya genetik orijini olabileceği bildirilmiştir¹⁴. Bununla birlikte diğer ilave faktörler de örneğin MCP-1 salınımındaki yetersizlik gibi, kemotaktik defektlerin sebebinin açıklamada göz önünde bulundurulmalıdır. Hanazawa ve arkadaşlarının⁸ yaptığı bir çalışmada periodontal hastalıklara sahip bireylerin dişeti dokusu örneklerindeki MCP-1 gen ekspresyonu ve dişeti cebi sıvısı örneklerindeki monosit kemotaktik aktivitesi incelenmiştir. Sonuç olarak kronik periodontitisli bireylerin dişeti dokusu örneklerinde sağlıklı bireylere göre bariz daha çok MCP-1 gen ekspresyonu tespit edilmiş ve araştırmacılar periodontal yönden hastalıklı dişeti dokularındaki monosit infiltrasyonunda MCP-1 ekspresyonunun önemli rol oynadığını vurgulamışlardır. Yu ve Graves²⁰ kronik inflame dişeti dokularındaki MCP-1 ekspresyonunu çift antikör immünohistokimya ve in situ hibridizasyon metodları ile incelemişler ve yoğun inflame dokuda MCP-1 ekspresyonunun orta ve hafif inflame bölgelere göre çok daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmalara paralel olarak bizim araştırmamızda da KP ve AgP grubunda immünoreaktivite gösteren epitelyal ve bağ dokusu hücre/fibril düzeylerinin SK grubuna göre istatistiksel düzeyde daha çok olduğu görülmüş bununla birlikte epitelyal hücreler hariç bağ dokusu hücre ve fibrilleri yönünden AgP grubundaki immünoreaktivite KP grubuna göre istatistiksel olarak daha fazla bulunmuştur. Çalışmamızın klinik verilerine göre de AgP ve KP grubundaki GI, CD ve AK düzeyleri SK grubuna göre istatistiksel düzeyde fazla olduğu tespit edilmiş, bununla birlikte AgP grubundaki aynı parametrelerin KP grubuna göre istatistiksel düzeyde fazla olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar araştırmamızın klinik ve immünohistokimyasal bulgularının birbirleriyle paralellik gösterdiğini ortaya koymaktadır. GI, CD ve AK skorlarındaki artışa paralel olarak dişeti dokusundaki MCP-1 immünoreaktivitesi gösteren hücresel eleman düzeylerinin de arttığı ve bu artışın periodontal hastalık patogenezinde rol oynadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte Zhu ve arkadaşları²² agresif ve kronik periodontitis hastalarının dişeti dokusu örneklerindeki monosit/makrofaj infiltrasyonu ve MCP-1 ekspresyonu seviyelerini karşılaştırmışlar ve sonuçta agresif periodontitiste daha hızlı ve

şiddetli periodontal yıkım olmasına rağmen MCP-1 ekspresyonu yönünden heriki grup arasında fark olmadığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlarla paralel olarak Kurtiş ve arkadaşlarının¹² önceki çalışmasında AgP ve KP gruplarında MCP-1 in dişeti oluşu sıvısındaki (DOS) düzeyleri incelenmiş ve sonuçta AgP ve KP grupları arasında DOS MCP-1 düzeyleri yönünden fark bulunamazken heriki hastalık grubuna ait MCP-1 düzeylerinin SK grubuna göre istatistiksel düzeyde fazla olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise MCP-1 immünoreaktivitesi gösteren epitelyal hücreler yönünden heriki hastalıklı grup arasında fark bulunmazken bağ dokusu hücreleri ve bağ dokusu fibrilleri yönünden agresif periodontitis lehine istatistiksel olarak fark bulunmuştur. Çalışmalar arasındaki bu farklılıklar kullanılan immünohistokimyasal yöntem, hasta seçim kriterleri veya hastalık aktivitesinin dokuya daha farklı yansımından kaynaklanmış olabilir. Çalışmamızda hastalıklı gruplarda gözlenen yaygın epitelyal vakuolizasyon hücre aktivitesindeki bozukluğu göstermektedir ve bu durumda hücre içerisinde bazı organeller dejenere olup vakuoller halini almıştır. Dolayısıyla sağlıklı hücrelerde gözlenmeyen vakuollerin varlığı hücre işlev bozukluğunun işaretidir. Vasküler endotelial hücreler yönünden KP grubunda SK ve AgP grubuna göre daha çok immünoreaktivite görülmüştür. Periodontal hastalıklardaki MCP-1 immünoreaktivitesi ile ilgili çalışmalarında Yu ve arkadaşları²¹ inflame dişeti örneklerinde immünohistokimya ve insitu hibridizasyon yöntemleri ile MCP-1 ekspresyonu yapan hücre tiplerini incelemişler ve sonuçta vasküler endotelial hücreler ve monosit/makrofajların MCP-1 ekspresyonu yaptığını bulgularıyla özellikle kronik inflamasyonlarda vasküler endotelial hücrelerde MCP-1 immünoreaktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Yine Garlet ve arkadaşları⁵ dişeti biyopsilerinde kemokinler ve kemokin reseptörlerinin ekspresyonunu PCR tekniği ile incelemişler ve sonuçta kronik periodontitis hastalarında agresif periodontitis hastalarına göre daha yüksek MCP-1 ekspresyonu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da bir sonuç olarak KP grubunda AgP ve SK gruplarına göre daha yoğun bir immünoreaktivite gözlenmiştir. Tüm bu bulguların ve çalışma sonuçlarının ışığı altında, dişetindeki MCP-1 ekspresyonunun konak cevabının önemli bir komponenti olabileceğini, ve ayrıca hem kronik hem de agresif periodontitiste gözlenen doku yıkımına katılan hücrelerin hastalık bölgesine toplanmasına da önemli düzeyde etkisinin olduğu görülmektedir. Fakat, periodontal hastalıklarda kemokin-periodontal hastalık ilişkisindeki mekanizmanın tam olarak anlaşılabilmesi ve inflamatuvar bölgelerine olan kemokine-bağlı lökosit migrasyonundaki olayların açıklanabilmesi için daha ileri çalışmaların yapılması gerektiğine inanmaktayız.

KAYNAKLAR

1. Antoniades HN, Neville-Golden J, Galanopoulos T, Kradin RL, Valente AJ, Graves DT. Expression of monocyte chemoattractant protein 1 mRNA in human idiopathic pulmonary fibrosis. *Proc Natl Acad Sci* 89: 5371-5375, 1992.
2. Baggiolini M. Chemokines in pathology and medicine. *J Intern Med* 250: 91-104, 2001.
3. Colotta F, Borre A, Wang JM, Tattaneli M, Maddalena F, Polentarutti N, Peri G, Mantovani A. Expression of monocyte chemotactic cytokine by human mononuclear phagocytes. *J Immunol* 148: 760-765, 1992.
4. Gamonal J, Bascones A, Jorge O, Silva A. Chemokine RANTES in gingival crevicular fluid of adult patients with periodontitis. *J Clin Periodontol* 27: 675-681, 2000.
5. Garlet GP, Martins Jr W, Ferreira BR, Milanezi CM, Silva JS. Patterns of chemokines and chemokines receptors expression in different forms of periodontal disease. *J Periodont Res* 38: 210-217, 2003.
6. Gemmell C.L., Carter & G.J. Seymour. Chemokines in human periodontal disease tissues. *Clin Exp Immunol* 125: 134-141, 2001.
7. Graves DT, Barnhill R, Galanopoulos T, Antoniades HN. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in human melanoma in vivo. *Am J Pathol* 140: 9-14, 1992.
8. Hanazawa S, Kawata Y, Takeshita A, Kumada H, Okithu M, Tanaka S, Yamamoto Y, Masuda T, Umemoto T, Kitano S. Expression of monocyte chemoattractant protein 1(MCP-1) in adult periodontal disease: Increased monocyte chemotactic activity in crevicular fluids and Induction of MCP-1 expression in gingival tissues. *Infect Immun* 12: 5219-5224, 1993.
9. Kabashima H., Yoneda M., Nagata K., Hirofuji T., Maeda K.. The presence of chemokine (MCP-1, MIP-1_α, MIP-1_β, IP-10, RANTES)-positive cells and chemokine receptor (CCR5, CXCR3)-positive cells in inflamed human gingival tissues. *Cytokine* 20: 70-77, 2002.
10. Kabashima H, Yoneda M., Nagata K., Hirofuji T., Ishihia Y., Yamashita M., Maeda K.. The presence of chemokine receptor (CCR5, CXCR3, CCR3)-positive cells and chemokine (MCP-1, MIP-1_α, MIP-1_β, IP-10)-positive cells in human periapical granulomas. *Cytokine* 16: 62-66, 2001.
11. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: Assembling the players. *Periodontol* 2000 14: 33-53, 1997.
12. Kurtiş B, Tüter G, Serdar M, Akdemir P, Uygur C, Fıratlı E, Bal B. Gingival Crevicular Fluid Levels of Monocyte Chemoattractant Protein-1 and Tumour Necrosis Factor-α in Patients with Chronic and Aggressive Periodontitis. *J Periodontology* 76: 1849-1855, 2005.
13. Löe H. The gingival index, plaque index, and the retention index systems. *J Periodontol* 38: 610-616, 1967.
14. Nagy RJ, Novak KF. Aggressive periodontitis: Newman MG, Takei HH, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology. Ninth Edition: W.B.Saunders Company, 2002, 409-414.
15. Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN. Monocyte chemoattractant protein 1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest* 88: 1121-1127, 1991.
16. Silness J, Löe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and oral condition. *Acta Odontol Scand* 22: 121-135, 1964.
17. Villiger PM, Terkeltaub R, Lotz M. Production of monocyte chemoattractant protein-1 by inflamed synovial tissue and cultured synoviocytes. *J Immunol* 149: 722-727, 1992.
18. Ward SG, Bacon K, Westwick J. Chemokines and T lymphocytes: More than attraction. *Immunity* 9: 1-11, 1998.
19. Yu XH, Barnhill RL, Graves DT. Expression of monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1) in delayed type hypersensitivity reactions in the skin. *Lab Invest* 71: 235-266, 1994.
20. Yu X., Graves D.T.. Fibroblasts, mononuclear phagocytes, and endothelial cells express monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in inflamed human gingiva. *J Periodontol* 66: 80-88, 1995.
21. Yu X, Antoniades HN, Graves DT. Expression of monocyte chemoattractant protein 1 in human gingival tissues. *Infect Immun* 61: 4622-4628, 1993.
22. Zhu X, Meng H, Chen Z. Infiltration of monocytes/macrophages and expression of MCP-1 in gingival tissues from patients with rapidly progressive periodontitis. *Chin J Stomatol* 34: 214-216, 1999.

Yazışma adresi

Doç. Dr. Bülent Kurtiş
Gazi Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı,
Bişkek Cad. 82. Sok. Emek-Ankara
Tel: 0(312) 212 62 20-277
E-posta: bulkurtis@yahoo.com