

**JUVENİL PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA DİŞETİ
ÖRNEKLERİNDE POLİMORFONÜKLEER LÖKOSİTLERİN
ELEKTRONMİKROSKOBİK İNCELENMESİ**

Doç. Dr. Ezel YAVUZYILMAZ * Dt. Betül BAYRAM**
Dt. Alev AKALIN** Prof. Dr. Türkân KÜÇÜKALİ***
Prof. Dr. Canan AKBAY

ÖZET

Juvenil periodontitis, klinik olarak 1. daimi molar ve kesici dişlerde vertikal, kuvvet tarzında kemik kaybı, cep oluşumu ve dişlerin yer değiştirmesi ile tanımlanan, etyolojisi kesin olarak bilinmeyen bir hastalıktır. İmmün sistemle ilgili çalışmalarda, sistemik olarak en önemli bulgunun kan nötrofillerinde kemotaksis ve fagositoz bozukluğu olarak gözlenen fonksiyonel defekt olduğu bilinmektedir. Ayrıca, hastalıkta subgingival florada hakim olarak gözlenen «Actinobacillus Actinomycetemcomitans»ın (A.a) nötrofiller için toksik olan ve fonksiyonlarını etkileyen bazı faktörler taşıdığı gösterilmiştir. Bu faktörler PMN'leri lokal olarak harab etmekte ve antibakteriyel mekanizmayı kötü yönde etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda A.a'nın kan lökositlerinde irreversibl sitopatik hasarlar yaptığı gösterilmiştir. Aynı tip etkinin doku düzeyinde de olabileceği düşünülerek çalışmamızda, juvenil periodontitisli hastalarda etkilenen dişlerden olan 1. molar dişlerin, mezialinden elde edilen dişeti örneklerinde, nötrofillerin elektronmikroskopik olarak incelenmesi amaçlanmıştır. Araştırmamızın sonuçlarına gö-

- (*) H.Ü. Dişhek. Fak. Periodontoloji Anabilim Dalı, Öğretim Üyesi.
(**) H.Ü. Dişhek. Fak. Periodontoloji Anabilim Dalı, Araş. Gör.
(***) H.Ü. Tıp Fak. Patoloji Kürsüsü, Öğretim Üyesi.
(****) A.Ü. Tıp Fak. Histoloji Kürsüsü, Öğretim Üyesi.

JUVENİL PERİODONTİTİS'DE ELEKTRONMİKROSKOPİ

re hasta nötrofillerinin, kontrollere kıyasla önemli morfolojik değişiklikler gösterdiği saptanmıştır.

Anahtar kelimeler : Juvenil Periodontitis, PMNL.

SUMMARY

THE ELECTRONMICROSCOPIC INVESTIGATION OF NEUTROPHILS IN GINGIVAL SPECIMENS IN PATIENT WITH JUVENILE PERİODONTİTİS

Juvenile periodontitis is a disease of unknown etiology described as to have arc shaped vertical bone loss, pocket formation and migration of teeth in first permanent molars and incisors area. In immunological studies it is well known that the most important systemic finding is defective chemotaxis and phagocytosis seen in blood PMNLs. In addition, A.a predominant in subgingival flora has been shown to release some factors which are toxic for neutrophils and affecting their functions. These factors locally destroy PMNLs and affect the antibacterial mechanism adversely. Studies have shown that A.a makes irreversible cytopathic destructions in blood leukocytes. Considering that the same affect may also occur in tissue level in our study we aimed to observe the neutrophils electronmicroscopically in gingival specimens obtained from the mesial aspects of affected first molars in patients with juvenile periodontitis. According to the results of our study it has been noted that the neutrophils of juvenile periodontitis patients showed significant morphological changes when compared with healthy controls.

Key words : Juvenile Periodontitis, PMNL.

GİRİŞ

Erişkin periodontitisten farklı olarak juvenil periodontitis, sağlıklı adölesanlarda gözlenen ve diğer periodontal hastalıklarına oranla ender olarak rastlanan bir hastalık tipidir. Klinik olarak birinci daimi molar ve kesici dişlerde vertikal, küvet tarzın-

da alveoler kemik kaybı, cep oluşumu ve dişlerin yer değiştirmesi ile tanımlanan juvenil periodontitis, etyolojisi kesin olarak aydınlatılamamış, genetik olabileceği ileri sürülen bir hastalıktır (3,10). Etiyolojisine açıklık getirebilmek amacıyla, mikrobiyoloji ile ilgili yapılan çalışmalarda, subgingival floranın diğer periodontal hastalıklarda belirlenen floradan farklı olduğu saptanmıştır. Özellikle Actinobacillus Actinomycetemcomitans (Aa.), Bacteroides Gingivalis, Capnocytophaga gibi gram (—) mikroorganizmaların baskın olduğu belirtilmiştir (7,11,12,23). Son yıllarda, immünite ile ilgili yapılan çalışmalar sonucu, sistemik olarak elde edilen en önemli bulgunun, periferik kan nötrofillerindeki fonksiyonel defektler olduğu gösterilmiştir (4,5,9,17,18,20). Kemotaksis ve fagositoz bozukluğu olarak saptanan bu defektlerin, periodontal dokuların direncini azalttığı bildirilmiştir (4). Ancak, periferdeki bu fonksiyonel bozukluğun herhangi bir sistemik belirti vermemesi de bu konunun aydınlatılamamış yönlerinden birisidir (21,22).

Bu konuda yapılan çalışmalarda hastalığın etkenleri arasında belirtilen A.a'nın konakçı direncini bozduğu, epitel hücreleri için epiteliotoksin, fibroblastlar için fibrotoksin, lökositler için ise lökotoksin ismi verilen maddeler içerdiği gösterilmiştir (2,13,14,16). Özellikle A.a'nın Y₄ susunun nötrofillerde irreversibl değişiklikler yaptığı, bu hasarlar sonucunda hücrelerde lysise kadar giden değişikliklerin ortaya çıktığı saptanmıştır (1). Bu bilgilerin ışığı altında, juvenil periodontitiste, subgingival florada gözlenen A.a'nın, gingival plexusdan çıkıp, plak antijenlerine doğru kemotaksis yapabilen nötrofilleri etkileyip, sitopatik değişiklikler yapabileceği düşünülmektedir.

Bu noktadan hareket edilerek, çalışmamızda, juvenil periodontitisli hastalarda A.a'nın en yoğun olduğu ileri sürülen altı numaralı dişlerin mezialinden elde edilen dişeti örneklerinde polimorfonükleer lökositlerin elektronmikroskopik incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda, H.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji kliniğine başvuran, klinik ve radyolojik olarak juvenil periodontitis

JUVENİL PERİODONTİTİS'DE ELEKTRONMİKROSKOPİ

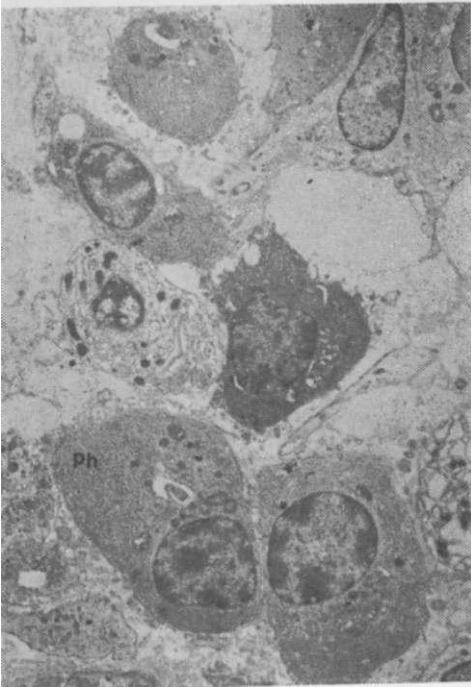
tanısı konulan beş, sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı iki birey üzerinde yürütüldü.

Hastalardan operasyonları sırasında taze olarak alınan dokular % 2'lik gluter Aldehitte 1. tespitten sonra Sorenson fosfat tamponunda yıkanıp, % 1'lik Ozmium Tetraoksitle 2. fiksasyondan sonra tekrar yıkandı ve % 25'den başlayan absolü alkole kadar gelen etil alkolde dehidratasyon yapıldı. Sonra araldit karışımına gömülüp, 48 saat 60°C'deki etüvde polimerizasyona bırakıldı. Sonra Reichart ultramikrotomunda elektron mikroskop için kesitler alındı. Uranyl asetat ve kurşun sitratla kontrastlandı. Jeol - 100C mikroskobunda incelendi.

BULGULAR

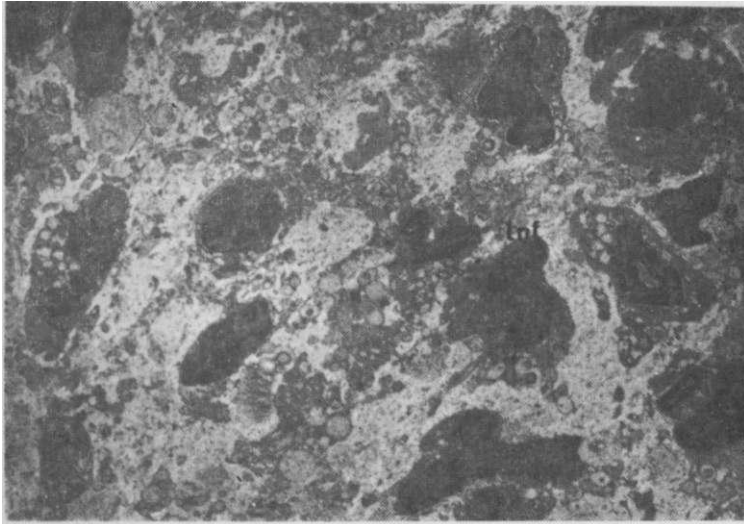
Araştırmamızdan elde edilen bulgulara göre, hastaların çoğunda yaygın olarak izlediğimiz plazma hücresi ve lenfosit infiltrasyonu vardı. Polimorfonükleer lökositler seyrek olarak izlendi. Hasta hücrelerinde hem plazma hücreleri, hem de lenfositler normal yapılarında gözlemlendi (Resim 1,2). Hasta polimorfonükleer lökositlerinin incelenmesinde intersegmental parçaların bağlantısı zayıflamış durumda idi. Perinükleer aralık belirginleşmiş ve nükleus zarı izlenmemekteydi. Nükleus kromatini yoğun, nükleusun büyük bir kısmını kaplar durumdaydı. Genelde heterokromatinin yoğun oluşu, hücrenin inaktif durumda olduğunu göstermektedir. Mitokondrialar yoğun matriksli, küçük kristaller izlenmemekteydi. Ayrıca endoplazmik retikulum yapıları da azalmış görünmekteydi (Resim 3, 5,7,). Kontrol örneğinde ise nükleus tamamen normal görünümde, trilaminar nükleus membranı belirgin bir şekilde izlenmekteydi. Mitokondrialar daha sık, kristalleri belirgin, ribozomlar ise çok sayıda ve gruplar yapmış polizomlar halindeydi. Ayrıca yine kontrol örneğinde sitoplazmanın bol oluşu dikkati çekmekteydi (Resim 4). Hasta nötrofillerinde ise ribozom sayıları kontrole oranla daha az, sitoplazmada dağılmış durumda, lizozomal yapılar ise koyu, ozmofil granüller içeren yapıda ve sayıları artmış olarak izlenmekteydi. Bunlara ilaveten sitoplazma miktarının azaldığı, uzantılarının oluştuğu, trilaminar hücre zarında yer yer erimeler olduğu dikkati çekmekteydi (Resim 3,5,6,7).

Ezel YAVUZ YILMAZ, Betül BAYRAM, Alev AKALIN, Türkân KÜÇÜKALİ, Canan AKBAY



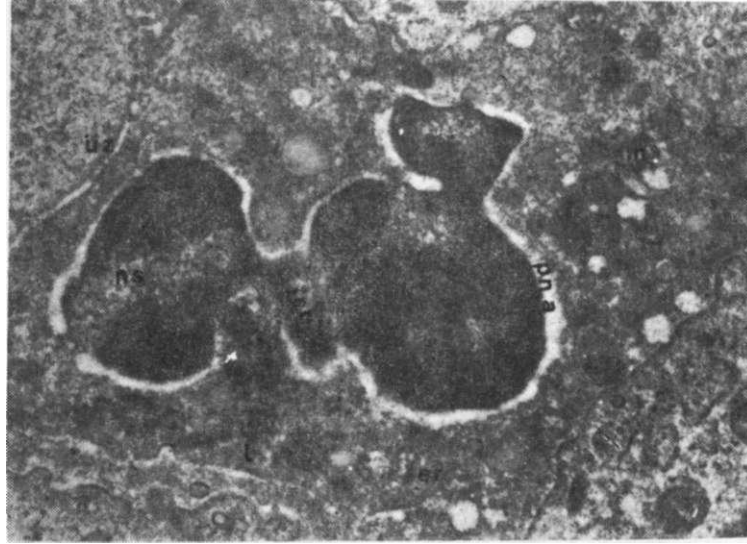
Resim 1 : Hasta dişeti örneğinde normal yapıda plazma hücreleri.

Ph : Plazma hücresi.



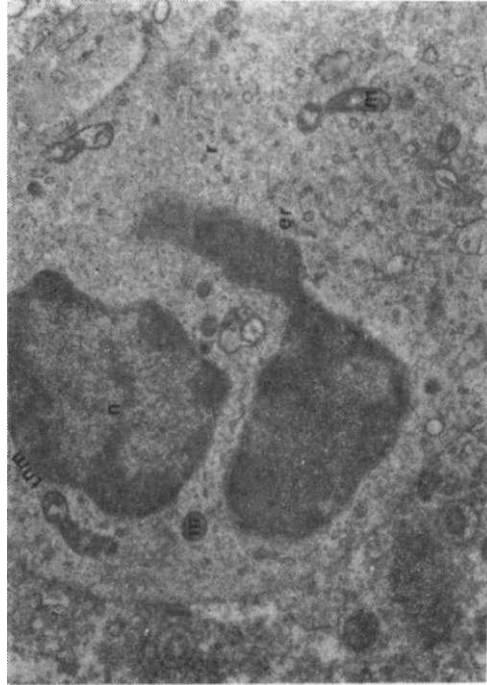
Besim 1 : Hasta dişeti örneğinde normal yapıda lenfositler.

Lnf : Lenfosit.



Resim 3 : Hasta dişeti örneğinde PMNL (Polimorfonükleer lökosit).

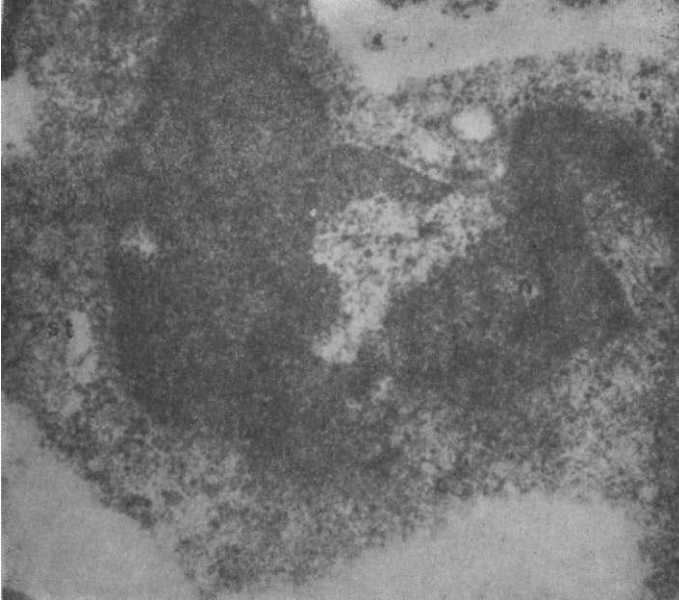
üz : ünit zar
isp : İntersegmental parça
Pna : Perinükleer aralık
r: Ribozom
er : Endoplazmik retikulum
ns : Nükleus segmenti
K : Kromatin
m : Mitokondri
L : Lizozom.



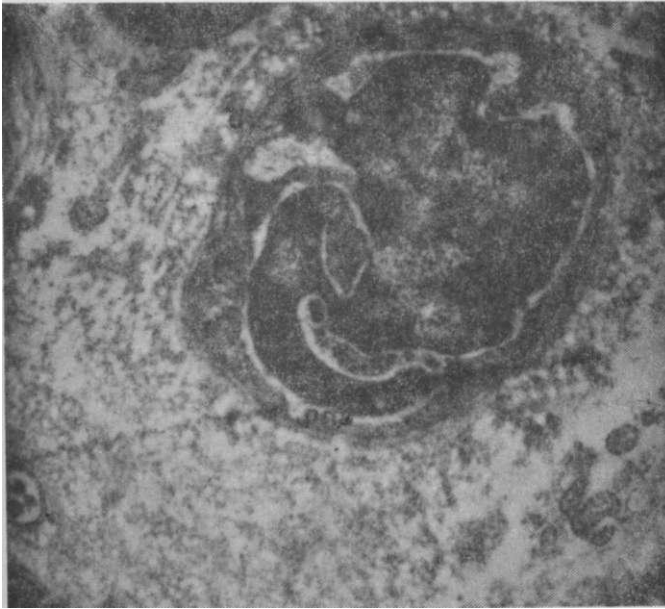
Resim 4 : Sağlıklı kontrol örneğinde PMNL.

n : Nükleus
m : Mitokondri
tnm : Trilaminar Nükleus Membranı
r : Ribozom
er : Endoplazmik retikulum.

Ezel YAVUZYILMAZ, Betül BAYRAM, Alev AKALIN, Türkân KÜÇÜKALİ, Canan AKBAY



**Resim 5 : Hasta dişeti örneğinde piknoza giden bir nötrofil.
st : Sitoplazma n : Nükleus**



**Resim 6 : Hasta dişeti örneğinde piknozun erken döneminde bir nötrofil.
üz : Ünit zar Pna : Perinükleer aralık**

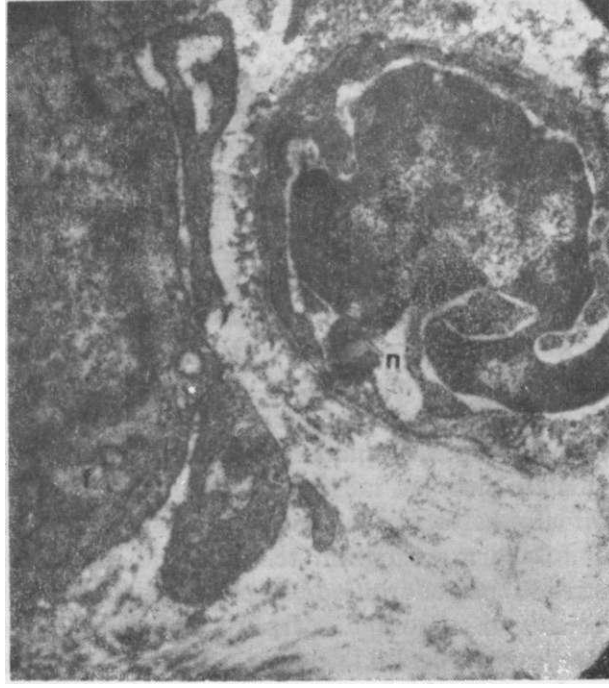


**Resim 7 : Hasta dişeti örneklerinden alınan bir kesitte nötrofil.
st: Sitoplazma n : Nükleus**

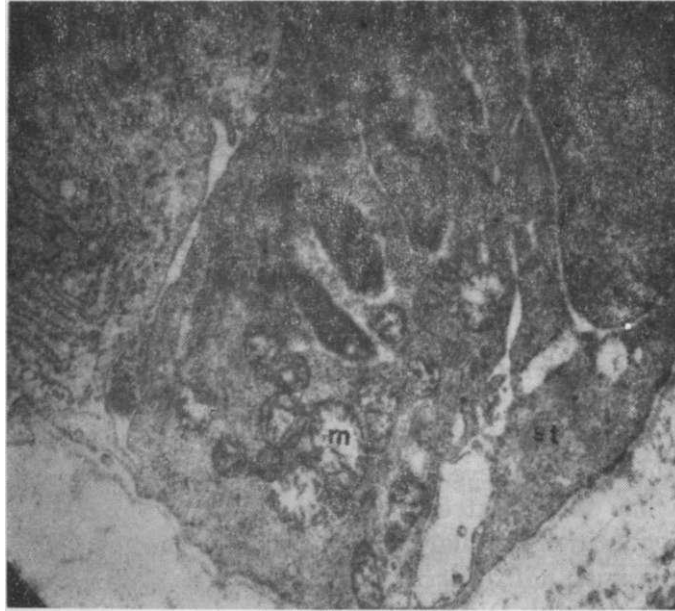
Hastalardan, hücre membranlarını kıyaslamak amacıyla alınan bir kesitte fibroblast ve nötrofil yanyana izlendi. Nötrofilin membranı yer yer devamlılığını yitirmiş, fibroblastın ise membran yapısı sağlıklı olarak izlenmekteydi (Resim 8).

Yine hasta dişeti örneklerinden alınan bir kesitte damar yakınından alınan bir fotoğrafta nötrofilin oldukça sağlıklı olduğu görülmekteydi. Nükleus ökromatik (aktif), sitoplazmada mitokondri yapıları normal ve kristalar normal yapısında izlenmekteydi (Resim 9).

Ezel YAVUZYILMAZ, Betül BAYRAM, Alev AKALIN, Türkân KÜÇÜKALİ, Canan AKBAY



Resim 8 : Hasta dişeti örneklerinden alınan bir kesitte fibroblast ve nötrofilin yanyana izlenişi,
f : Fibroblast n : Nötrofil



Resim 9 : Hasta dişetinde damar yakınından alınan bir kesitte normal yapıda bir nötrofil izlenmektedir,
m : Mitokondri st: Sitoplazma n : Nükleus

TARTIŞMA

Çalışmamızın sonuçlarına göre hasta ve kontrol nötrofillerinin kıyaslanmasında önemli morfolojik farklılıklar olduğu saptanmıştır. Enfeksiyonlardan korunmada büyük önem taşıyan polimorfonükleer lökositler hem aerobik, hem de anaerobik yolla glikoliz yaparlar ve periodontal hastalıkların bütün safhalarında birleşim epitelinde, dişeti oluğunda toplanabilirler (4,8). Plağı oluşturan bakterilerin kendileri veya ürünleri kompleman sistemini aktive edip, kemotaktik faktör oluşumunu sağlayarak monosit ve polimorfonükleer lökositlerin bu faktörlere yönelmesini başlatırlar(6). Antijenin olduğu bölgede toplanan lökositler, dişeti ve plak bakterileri arasında bir bariyer meydana getirirler. Bu esnada, fagositlerin normal fonksiyonlarını gösterememesi, sayılarındaki azlık, periodontal dokuların sağlığının tehlikeye düşmesine neden olabilir (4,22). Juvenil periodontitiste yapılan çalışmalarda hem periferik kan, hem de dişeti oluğu nötrofillerinde fonksiyonel defektler olduğu gösterilmiş ve özellikle defektin nedenini açıklamaya yönelik araştırmalar yoğunlaşmıştır. Bazı araştırmacılar, serumda bulunan bir inhibitörden söz ederken (17,19), bazıları da hücreye ait intrinsek bir defekt olabileceğini ileri sürmüşlerdir (5).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise juvenil ve hızlı ilerleyen periodontitisli hastaların subgingival florasında yüksek sayıda rastlanan A.a isimli bakterinin, nötrofiller için spesifik bir lökotoksin ürettiği ve bunun kemotaktik cevabı inhibe ettiği ileri sürülmektedir (19,22).

A.a'dan elde edilen ısıya dayanıksız olan bu lökotoksinin insan monosit ve PMNL'lerini harab ettiği gösterilmiştir (1,2,15). Aynı olayların dişeti bağ dokusu nötrofillerinde de oluşabileceği nötrofillerin bu yolla Lysis'e uğrayabileceği ve lizozomal enzimlerinin açığa çıkması ile lokal doku yıkımı potansiyelinin artabileceği bildirilmiştir (22). Polimorfonükleer lökositlerin bağ dokusunda damarlardan çıkıp, kemotaksis yaparak antijenin bulunduğu bölgeye gelmesindeki gecikmeye, lokal olarak oluşmuş floranın etkili olabileceği öne sürülmektedir (20). Çalışmamızın amacı lokalize juvenil periodontitisli hastalarda, plak antijenlerine çok yakın olan dişeti bağ dokusu nötrofillerinde morfolojik değişiklikler olup olmadığını araştırmaktır. Nitekim, hücrelerde dejenerasyona kadar gide-

bilen, nükleus zarının kaybolması, nükleus segmentlerinin birbirinden ayrılması, nükleus kromatininin yoğunlaşması, mitokondri-
aların küçülmesi, endoplazmik retikulum ve ribozomların azalma-
sı, lizozomal yapıların artması, sitoplazma miktarının azalması,
uzantılarının oluşması ve hücre zarında yer yer erimelerin oluş-
ması gibi sitopatik bulgular belirlenmiştir.

Kesitlerde saptadığımız ilginç bir bulgu da damar yakınından
alınan bir nötrofil fotoğrafında diğerlerine kıyasla daha az morfo-
lojik değişikliklerin görülmesiydi (Resim 9). Bu bulgulara göre,
hücreler damar çeperini terkedip, dokuda ilerleyip, antijenin bu-
lunduğu bölgeye yaklaştıkça, sitopatik değişikliklerin artması müm-
kün olabilir. Bu mekanizma ile lizise uğrayan nötrofillerden, or-
tama çıkan lizozomal enzimlerin direk olarak bağ dokusu yıkımını
hızlandırabileceği düşünülebilir. Çalışmamız yalnızca, hücre mor-
folojisinde sitopatik değişiklikler olup olmadığını araştırmak ama-
cıyla planlanmıştır. Daha sonraki aşamada ise bu incelemeye ek
olarak, hücre granül komponentlerinin histokimyasal olarak ince-
lenmesi planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1 — Baehni, P., Tsai, C-C, NC Arthur, W.P., Hammond, B.F., and Taich-
man, N.S. : Interaction of inflammatory celi and oral microorganisms.
VIII. Detection of leukotoxic activity of a plaque - derived Gram -
negative microorganism. *Infect and Immun.*, 24 : 233, 1979.
- 2 — Baehni, P.C., and et al.: Leukotoxic activity in different strains of
the Bacterium actinobacillus actinomycetemcomitans isolated from
Juvenile Periodontitis in man. *Archs. Oral Biol.*, 26 : 671, 1981.
- 3 — Baer, P.N. : The case for periodontozis as a clinical entity. *J. Peri-
odontol.*, 42 : 516, 1971.
- 4 — Clark, R.A., Page, R.C., Wilde, G. : Defective neutrophil chemotaxis
in juvenile periodontitis. *Infect. and Immun.*, 18 : 694, 1977.
- 5 — Lavine, W.S., Maderazo, E.G., Stolman, J., Ward, P.A., Cogen, R.B.,
Greenblatt, I., Robertsson, P.E. : Impaired neutrophil chemotaxis in
patients with juvenile and rapidly progressing periodontitis. *J. Peri-
odont. Res.*, 14 : 10, 1979.

- 6 — Lindhe, J., Helldon, L.: Neutrophilic chemotactic activity elaborated by dental plaque. *J. Periodont. Res.*, 7 : 297, 1972.
- 7 — Moore, W.E.C.: Microbiology of periodontal disease. *J. Periodontal Res.*, 22 : 335, 1987.
- 8 — Page, R.C., Schroeder, H.E.: Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current works. *J. Lab. Invest.*, 33 : 235, 1976.
- 9 — Page, R.C., et al. : Defective neutrophil and monocyte motility in patients with Early Onset Periodontitis. *Infect and Immun.*, 47 : 169, 1985.
- 10 — Saxen, L. : Juvenile Periodontitis. *J. Clin. Periodont.* 7 : 1, 1980.
- 11 — Slots, J. : The predominant cultivable organisms in juvenile periodontitis. *Scand. J. Dent. Res.*, 84 : 1, 1976.
- 12 — Slots, J., Reynolds, H.S., Genco, R.J. : Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease : a cross sectional microbiological investigation. *Infect and Immun.*, 29 : 1013, 1980.
- 13 — Suzuki, J.B., Collison, B.C., Falkler, W.A., and Nauman, R.K. : Immunologic profile of juvenile periodontitis. II. Neutrophil chemotaxis, Phagocytosis and spore germination. *J. Periodontol.*, 55 : 401, 1984.
- 14 — Taichman, N.S., et al. : Cytopathic effects of actinobacillus actinomycetemcomitans on monkey blood Leukocytes. *J. Periodont. Res.*, 19 : 133, 1984.
- 15 — Tsai, C-C., Mc Arthur, W.P., Baehni, P.C., Hammond, B.F., and Taichman, N.S. : Extraction and partial characterization of a Leukotoxin from a plaque - derived gram - negative microorganism. *Infect and Immun.*, 25 : 427, 1979.
- 16 — Tsai, C-C, Mc Arthur, W.P., Baehni, P.C., Evian, P.C., Gehco, R.J., Taichman, N.S. : Serum neutralizing activity against actinobacillus actinomycetemcomitans leukotoxin in juvenile periodontitis. *J. Clin. Periodont.*, 8 : 338, 1981.
- 17 — Van Dyke, T.E., et al. : Neutrophil chemotaxis. dysfunction in human periodontitis. *Infect. and Immun.*, 27 : 124, 1980.
- 18 — Van Dyke, T.E., et al. : Periodontal disease and impaired neutrophil function. *J. Periodontal Res.*, 17 : 492, 1982.
- 19 — Van Dyke, T.E., et al. : The polymorphonuclear Leukocyte (PMNL) locomotor Defect in Juvenile Periodontitis. *J. Periodontol.*, 53 : 682, 1982.
- 20 — Van Dyke, T.E., Levine, M.J., Genco, R.J. : Neutrophil function and oral disease. *J. Oral Pathol.*, 14 : 95, 1985.

- 21 — Yavuzyılmaz, E., Ersoy, F., Sanal, Ö., Baykara, M. : Juvenil periodontitisli hastalarda lenfosit kemotaksisi. G.Ü. Dişhek. Fak. Dergisi, Cilt V, Sayı 1, 109-116, 1988.
- 22 — Yavuzyılmaz, E. : Polimorfonükleer lökositler (Nötrofiller) ve periodontal hastalıklardaki rolleri. M.Ü. Dişhek. Fak. Dergisi, Cilt 3, Sayı 14, 20-23, 1987.
- 23 — Zambon, J.J. : Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 12 : 1, 1985.