

## HIZLI İLERLEYEN PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA LENFOSİT KEMOTAKSİSİ

Ezel YAVUZYILMAZ\* Fügen ERSOY\*\* Özden SANAL\*\*\*  
Merih BAYKARA\*\*\*\*

### GİRİŞ

Yaygın hızlı, horizontal kemik kaybı ile karakterize olan hızlı ilerleyen periodontitis sistemik olarak sağlıklı bireylerde puberte ile 30 - 35 yaşları arasında belirlenen bir hastalıktır (5, 6). Bu hastalıkta gözlenen çok hızlı kemik kaybı, J. periodontitis de olduğu gibi bakteriyel plâkla izah edilememektedir (2, 3). Hastalığın gelişmesi esnasında özellikle Actinobacillus, capnocytophaga, fusobacterium gibi patojenlerin hakim olduğu bildirilmiştir (3). Periferik kan ile yapılan çalışmalarda hastaların % 48'inde nötrofil fonksiyon bozuklukları saptanmıştır (4, 7).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, nötrofiller gibi lenfositlerinde enfeksiyon bölgesinde toplandıkları gösterilmiştir (12). Literatür incelendiğinde hızlı ilerleyen periodontitisli hastaların periferik kan lenfosit kemotaksisinin incelendiği bir araştırmaya rastlanmadı. Bu nedenle çalışmamızda, bu grub hastalarda periferik kan lenfosit kemotaksisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

### YÖNTEM VE GEREÇLER

Çalışmamız sistemik açıdan sağlıklı yaşları 21 ile 33 arasında değişen, 13'ü kız, 3'ü erkek 16 hızlı ilerleyen periodontitis, 10'u kız, 6'sı erkek 16 sağlıklı kişi üzerinde yürütüldü. Hasta ve kontrol grubunu

(\*) H.Ü. Dişhek. Fak. Periodontoloji Anabilim Dalı, Öğr. Gör., Dr. Dt.

(\*\*) H.Ü. Tıp Fak. Pediatri Anabilim Dalı, Öğr. Üyesi., Prof. Dr.

(\*\*\*) H.Ü. Tıp Fak. Pediatri Anabilim Dalı, Öğr. Üye., Doç. Dr.

(\*\*\*\*) H.Ü. Dişhek. Fak. Periodontoloji Anabilim Dalı, Araş. Gör. Dt.

oluşturan bireylerin tüm dişlerinin cep derinlikleri, ağız içi radyografileri ve Russell periodontal indeksleri alındı.

**Lenfosit kemotaksisi çalışmaları :** Deney grubunu oluşturan bireylerden ml de 20 ünite heparin olacak şekilde 10'ar ml. venöz kan alındı. Cam tüplere aktarılan kana monositleri elimine etmek için bir spatül ucu ile «Carbonyl Iron» eklenip, 37°C de 30 dakika çalkalandı. Daha sonra PBS (Phosphate buffered Saline) ile sulandırılarak yayma yapıldı ve peroksidaz ile boyandı. Monosit sayısı % 3'den fazla ise tekrar «Carbonyl Iron» ile muamele edildi. Monosit oranı % 3'den az ise kan 3 ml «Ficoll Hypaque» (Nyaguard Co, As Osb Norway) üzerine tabaka yapacak şekilde konuldu. 1400 devir/dk'da 30 dakika çevrildi. Pastör pipeti ile lenfosit tabakası alındı. İki kez içinde % 2 FCS (Fetal calf serum) bulunan PBS ile 1200 devir/dk. da çevrilerek yıkandı ve % 10 FCS içeren RPMI 1640 medium ile hücreler  $4 \times 10^6$ /ml olacak şekilde sulandırıldı. Kemotaktik madde olarak Zimozan aktive serum (ZAS) kullanıldı.

**Milipore filtre yöntemi :** Boyden (1)'in tanımladığı yöntem bazı değişiklikler yapılarak uygulandı. Skyes Moore çelik kameraları kullanıldı. Lenfosit sayısı  $4 \times 10^6$ /ml'ye ayarlandı. Lenfositler için 5 µm olan filtreler kullanıldı. Skyez Moore kameraları milipore filtre ile ayrılan alt ve üst bölümlerden oluşmaktadır. Alt bölüme kemotaksisi değerlendirmek için 0,6 ml 1/10 ZAS veya random migrasyonu (rastgele göçü) değerlendirmek için RPMI 1640, üst bölüme 0,5 ml hücre kondu. Üç saat % 5 CO<sub>2</sub> içeren ortamda 37°C de bekletildi. Süre sonunda kameralar açıldı ve hemotoksilen eosin ile boyandı. Boya sonunda filtre üzerine bir damla immersiyon yağı damlatıldı, lam lamel arasına konuldu. Bir mikroskop alanında filtre içinde en ileri giden üç hücrenin gittikleri mesafe ölçüldü. Bu ölçümler filtrede en az altı alanda yapıldı ve bütün ölçümlerin ortalaması sonuç olarak değerlendirildi. Bu yöntemde ZAS/Medium değerleri kemotaktik indeks olarak alındı. Sonuçların istatistiksel değerlendirmesi iki ortalama arası farkın önem kontrolü testi (t testi) ile yapıldı (11).

## BULGULAR

1. **Klinik bulgular :** Kontrol grubunu yaşları 19 - 28 arasında değişen 16 birey oluşturdu. Cep derinliği  $1.60 \pm 0.06$  mm. olan bu kişi-

lerde Russell periodontal indeks ortalaması ise  $0.23 \pm 0.06$  olarak hesaplandı. Hızlı ilerleyen periodontitis grubunu oluşturan 16 hastanın yaşları 21 ile 33 arasında olup, ortalaması  $27 \pm 1.0$  olarak saptandı. Bu grubun cep derinliği değerleri ortalaması  $5.54 \pm 0.35$  mm, Russell periodontal indeks değerleri ortalaması ise  $6.69 \pm 0.20$  olarak bulundu. Hasta ve kontrol grubu arasında klinik parametreler (cep derinliği, Russell periodontal indeks değerleri) açısından istatistiksel olarak önemli farklılıklar saptandı ( $P < 0.05$ ).

**2. Kemotaksis bulguları :** Araştırmamızda kontrol grubunun lenfosit kemotaksisi, random migrasyonu ve kemotaktik indeksi sırayla  $59.02 \pm 1.49 \mu\text{m}$ ,  $21.21 \pm 0.78 \mu\text{m}$ ,  $2.83 \pm 0.13$  olarak bulundu.

Hızlı ilerleyen periodontitisli grubun lenfosit kemotaksisi ortalaması  $38.76 \pm 1.79 \mu\text{m}$ , random migrasyonu değerleri ortalaması  $16.75 \pm 0.68 \mu\text{m}$ , kemotaktik indeks değerleri ortalaması ise  $2.36 \pm 0.10$  olarak saptandı.

Elde edilen bu bulgular istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, hızlı ilerleyen periodontitisli hastaların kemotaksis, random migrasyon ve kemotaktik indeks değerleri ortalaması, kontrol grubuna kıyasla önemli derecede düşük olarak bulundu (Tablo 1), (Grafik).

**TABLO 1 : Hızlı İlerleyen Periodontitisli Hastalarda ve Sağlıklı Kontrollerde Lenfosit Kemotaksisi ve Random Migrasyonu.**

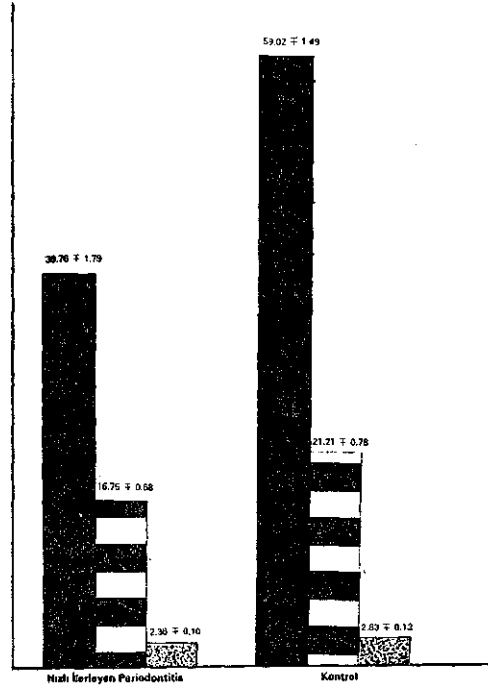
	No	ZAS'a doğru katedilen mesafe (Kemotaksis) $x \pm SH (\mu\text{m})$	Medium'a doğru katedilen mesafe (Random migrasyon) $x \pm SH (\mu\text{m})$	Lenfosit Kemotaktik İndeks
Hızlı İlerleyen Periodontitis	16	$38.76 \pm 1.79$ (26.1 —52.8)*	$16.75 \pm 0.68$ (13.3 —24.6)	$2.36 \pm 0.10$ (1.70—3.25)
Sağlıklı Kon. Grubu	16	$59.02 \pm 1.49$ (51.25—67.1)	$21.21 \pm 0.78$ (15—28.2)	$2.83 \pm 0.13$ (2.20—3.85)
		$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$

No : Denek Sayısı x Aritmetik Ortalama

SH : Standart Hata

\* : Parantez içinde değişim sınırları verilmiştir.

## PERIODONTİTİSTE LENFOSİT KEMOTAKSİSİ



Grifik: Hızlı ilerleyen periodontitisi hastalarda lenfosit kemotaksis, random migrasyon ve kemotaktik indeks ortalamalarının kontrol grubu değerleri ile kıyaslanması.

■ Kemotaksis ■ Random Migrasyon ■ Kemotaktik İndeks

## TARTIŞMA

Son yıllarda yapılan çalışmalar, nötrofiller ve makrofajlar gibi lenfositlerin de enfeksiyon bölgesine gelebildiklerini ve bu olayın da kemotaktik faktörler aracılığı ile oluştuğunu göstermiştir. İmmün sistem hücrelerin hasara uğramış dokularda veya antijenin bulunduğu bölgede toplanmaları, bağışıklık sisteminin temel olaylarından birini oluşturur. Bu fonksiyondaki bir bozukluk, organizmanın enfeksiyonlara karşı daha hassas bir duruma geçmesine neden olur (12, 14).

Hızlı ilerleyen periodontitisli hastalarda non-spesifik immünite ile ilgili yapılan çalışmalarda, nötrofil kemotaksisi ve fagositozunun düşük olduğu saptanmıştır (4, 7). Literatürde bu grub hastalarda lenfosit kemotaksisinin incelendiği bir araştırmaya rastlanmadığından sonuçlarımızı kıyaslama imkânını bulamadık. Hızlı ilerleyen periodon-

titisli hastalarda nötrofil fonksiyonlarındaki bozukluk, hastalıkta hakim olarak gözlenen gram-floraya bağlanmaktadır (4, 7). Juvenil periodontitis de olduğu gibi Actinobacillus actinomycetemcomitansın (A.a) Y<sub>4</sub> suşunun bu hastalıkta da immün sistem hücrelerini etkileyebileceği düşünülmektedir (8, 10). Shenker ve ark. (9) bu mikroorganizmanın Y<sub>4</sub> suşunun T baskılayıcı hücrelerini aktive ederek, T yardımcı hücrelerinin fonksiyonlarını inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ancak T lenfosit alt grupları ile lenfosit kemotaksisi arasındaki ilişki tam olarak açıklanmadığından, hastalarımızda gözlediğimiz lenfosit kemotaktik hareketlerindeki bozukluğun nedenini açıklayamıyoruz.

Aynı grub hastalarda nötrofil çinko düzeyleri ve kemotaksisi ile ilgili yaptığımız bir çalışmada hasta grubu nötrofil çinko düzeyleri ve kemotaksisi kontrollere kıyasla önemli derecede düşük bulunmuş ve bu hastalardaki kemotaksis bozukluğuna neden olan faktörler arasına çinko eksikliğinin de katılabileceği bildirilmiştir (13). Kanımızca, hızlı ilerleyen periodontitisli hastalarda, nötrofillerde gözlediğimiz çinko eksikliği lenfositlerde de bulunabilir ve çinko düşüklüğü de lenfosit kemotaksisini etkileyebilir. Ancak çalışmamızda lenfosit çinko düzeylerini inceleyemedik.

Bu bilgilerin ışığı altında, hızlı ilerleyen periodontitisli hastalarda saptadığımız lenfosit hareketlerindeki bozukluğun açıklanabilmesi için daha ileri düzeyde çalışmalara gerek vardır.

## Ö Z E T

Bu çalışmada, 16 hızlı ilerleyen ve 16 sağlıklı bireyin lenfosit kemotaksisi incelendi. Hızlı ilerleyen periodontitisli hastaların lenfosit kemotaksis, random migrasyonu ve kemotaktik indeksi kontrol grubundan önemli derecede düşük bulundu.

## SUMMARY

### LYMPHOCYTE CHEMOTAXIS IN PATIENTS WITH RAPIDLY PROGRESSIVE PERIODONTITIS

In this study, the lymphocyte chemotaxis was examined in 16 patients with rapidly progressive periodontitis and 16 healthy subjects. The lymphocyte chemotaxis, random migration and chemotactic index of patients were found to be significantly lower than controls.

## KAYNAKLAR

- 1 — Boyden, S.V. : The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen of polymorphonuclear leukocytes and monocytes. *J. Exp. Med.*, 115: 453, 1962.
- 2 — Carranza, F.A. : *Clinical Periodontology*, p: 299. W.B. Saunders Company, Igaku-Shoin/Saunders, Philadelphia, 1984.
- 3 — Helderman, W.H.V.P. : Microbial etiology of periodontal disease. *J. Clin. Periodont.*, 8: 261, 1981.
- 4 — Lavine, W.S., Maderazo, E.G., Stolman, J., Ward, P.A., Cogen, R.B., Greenbatt, I., Robertson, P.B. : Impaired neutrophil chemotaxis in patients with Juvenile and rapidly progressing periodontitis. *J. Periodontal. Res.*, 14: 10, 1979.
- 5 — Page, R.C., Schroeder, H.E. : *Periodontitis in man and other animals*. Basel, S. Karger and Co., pp: 330, 1982.
- 6 — Page, R.C., et al. : Rapidly progressive periodontitis. A distinct clinical condition. *J. Periodontol.*, 54: 197, 1982.
- 7 — Page, R.C., Sims, T.J., Geissler, F., Altman, L.C., Baab, D.A. : Abnormal leukocyte motility in patients with early-onset periodontitis. *J. Periodontal. Res.*, 19: 591, 1984.
- 8 — Sandholm, L. : Cellular host response in Juvenile periodontitis. *J. Periodontol.*, 56: 359, 1985.
- 9 — Shenker, B.J., Mc Arthur, W.P. and Tsai, C-C. : Immune supression induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Effects on human peripheral blood lymphocyte responses to mitogens and antigens. J. Immunol.*, 128: 148, 1982.
- 10 — Shenker, B.J., Tsai, C-C. and Taichman, N.S. : Supression of lymphocyte responses by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Periodont. Res.*, 17: 462, 1982.
- 11 — Smblolu, K. : Sağlık bilimlerinde araştırma teknikleri ve İstatistik., Sayfa 116, Matis Yayınları, Ankara, 1978.
- 12 — Ward, P.A., Gallin, J.I., Quie, P.G. : Leukocyte chemotaxis. Sayfa : 405, Raven Press, New York, 1978.
- 13 — Yavuzylmaz, E., Ersoy, F., Sanal, ., alayan, G. : Hızlı ilerleyen periodontitisli hastalarda nötrofil çinko düzeyleri ve çinko sülfat tedavisinin nötrofil kemotaksisi üzerine etkisi. *A.. Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 14: 1, 1987, (Baskıda).
- 14 — Zigmund, S.H. : Chemotaxis by polymorphonuclear leukocytes. *J. Cell. Biol.*, 77: 269, 1978.