

DENEYSEL GİNGİVİTİS OLUŞTURULMUŞ KÖPEKTE
FARKLI PLAK KONTROLÜ YÖNTEMLERİNİN DİŞETİ
DOKULARINA ETKİSİNİN ULTRASTRÜKTÜREL OLARAK
KARŞILAŞTIRILMASI*

Koksal BALOŞ**

Ateş PARLAR***

GİRİŞ

Yaklaşık son 30 yıl içinde yapılan çalışmalar, iltahabi gingival ve periodontal hastalıkta ana etiyolojik faktörün, bakteriyel plak ve ürünleri olduğunu ortaya koymuştur (44, 50).

insanlar (26,49), ve hayvanlar (25, 38, 17, 30, 31) üzerinde yapılan çalışmalar, periodontal yıkımlar ile bakteriyel birikintiler arasında gerçek bir ilişki olduğunu kanıtlamıştır. Bu ilişkinin varlığı, epidemiyolojik çalışmalarla da doğrulanmıştır (29, 52).

Plak biiilsiminin engellenmesi ile, mevcut gingival inflamasyon ortadan kalkmakta; plak kontrolünün düzenli sağlanması halinde ise gingivitis oluşması önlenabilmektedir (26, 49, 50).

Bakteri--plağı kontrolünde en çok yararlanan ve en emin yol mekanik temizlik yöntemleridir (48, 52). Ancak zaman zaman, mekanik temizliğin yanı sıra veya onun yerine antibakteriyel ajanlarla kimyasal plak kontrolüne de gerek duyulmaktadır (18, 28).

Bu amaç için kullanılabilir uygun bir antibakteriyel ajanı saptamaya yönelik çalışmalar sonucunda yaklaşık 25 seneden beri hayvanlar ve insanlar üzerinde test edilen Chlorhexidine

(*) Araştırma, A.Ü. Veteriner Fakültesi. A.Ü. Tıp Fakültesi, G.Ü. Dişhekimliği Fakültesi'nde yapılmış ve Türk Periodontoloji Derneğinin XV. Bilimsel Kongresi'nde sunulmuştur (Marmaris, 1984).

(**) Prof. Dr., G.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Dekanı ve Periodontoloji Anabilim Dalı Başkanı.

(***) Dt., G.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi.

glukonat'ın (Chx) güvenilir bir madde olduğu anlaşılmıştır (7, 27,35).

Bu çalışmada, deneysel gingivitis oluşturulmuş köpekte topikal Chx uygulaması veya mekanik temizlik ile klinik sağlıklı duruma döndürülmüş dişeti dokularının ultrastrüktürel düzeyde karşılaştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda bir adet yerli-melez, yetişkin erkek köpek kullanıldı. Deney hayvanı araştırmalaborâtuarında bulunan deney hazır köpekler arasından sağlıklı dişetinin klinik kriterleri gözönüne alınarak seçildi.

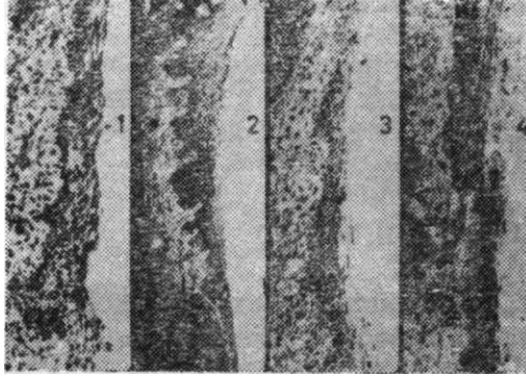
Araştırmanın başlatıldığı gün, klinik sağlıklı dişeti örnekleme için biyopsiler alındı. Klinik sağlıklı dişeti örnekleri genellikle premolar bölgelerden elde edildi. Kanin dişler yöresinde ise hafif bir yüzeysel gingivitis mevcuttu.

O günden itibaren deney hayvanı yumuşak ve yapışkan diyet (suda ezilmiş bisküvi) ile beslenerek plak akümülyasyonunun artmasına çalışıldı. Plak birikimi ve gingivitisin oluşması plak boyama, dişetinin rengi, kontum, ödem durumu ve kanama eğilimi ile değerlendirilerek takip edildi. **18.** günde klinik gingivitis belirtilerinin yerleştiğine karar verildi ve iltahaplı dişeti dokularını örnekleme için dişeti biyopsileri alındı. Biyopsilerin alınmasını takiben deneyin ikinci bölümü başlatıldı.

Bu dönemde, deney hayvanı rutin diyetine döndürülerek biyopsi yaralarının iyileşmesi için **1** hafta beklendi. Bunu takiben kontralateral segmentlerde günde bir kere % **2** topikal Chx uygulaması veya günde iki kere diş fırçalama ile plak kontrolü sağlandı. Plak kontrolünün **20.** gününde klinik kriterler içerisinde sağlıklı dişetine ulaşıldığına karar verilerek her iki grup içinde biyopsi örnekleri alındı.

Böylece **45** günlük deney periyodu sonunda;

1. Klinik sağlıklı dişeti,
2. Deneysel dişeti iltahabı,
3. Diş fırçalama ile elde edilen sağlıklı dişeti, ve
4. Chx uygulanarak elde edilen sağlıklı dişeti dokularına ait biyopsi örnekleri alınmış oldu.



Resim 1. 45 günlük dene.v periyodunda 1) Klinik dişeti, 2) Deneysel dişeti iltihabı, 3) Diş fırçalama ile elde edilen sağlıklı dişeti ve 4) Chx uygulanarak elde edilen sağlıklı dişeti dokuları incelendi.

Alınan dişeti örnekleri derhal $1 + 4^{\circ}\text{C}$ paraformaldehid glutaraldehid solüsyonuna atıldı ve bu solüsyon içinde 1 mm. genişliğinde olacak şekilde uzunlamasına parçalara ayrıldılar. Bu solüsyon içinde 2 saat buzdolabında ön tespitten sonra veronal asetat tamponlu osmium tetroksitte buzdolabında 1 saat son tespit yapıldı. Uranil asetat ile blok boyamasını takiben, parçalar dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyona tabi tutuldular ve Araldit materyali ile bloktandılar, LKB Ultratome III ile 1 mikronluk yan-ince kesitler alındı. Toluidin mavisi ile boyanan bu kesitler ışık mikroskobunda incelendi ve üzerine Target Marker 11870 monteli LKB 11800 Pyramitome ile bloklar tekrar traşlandı. LKB Ultratome ile alınan 500-700 Å lük çok ince kesitler bakır gridler üzerine toplandı ve kurşun sitrat ile kontrastlandıktan sonra Carl-Zeiss EM 9 S-2 elektron mikroskobunda incelendiler.

Işık mikroskobik inceleme için alınan parçalar ise, formol ile tespit edilip dereceli alkollerden geçirilerek dehidrate edildiler. Parafin içinde bloklanan parçalardan alınan 5 mikronluk kesitler H.E. ve Mallory Triple ile boyandılar.

BULGULAR

Işık mikroskobik gözlemler .-

Klinik sağlıklı dişetinde sulkus epitelinin ince olup, proliferasyondan uzak olduğu görülürken; deneysel dişeti iltihabında sulkus epitelinde kalınlaşma ve proliferasyon ile rete-peg yapılarının olduğu izlendi. Sağlıklı dişetinde epitel altı bağ dokusunda az miktarda lenfosit ve makrofaj görüldü; buna karşılık

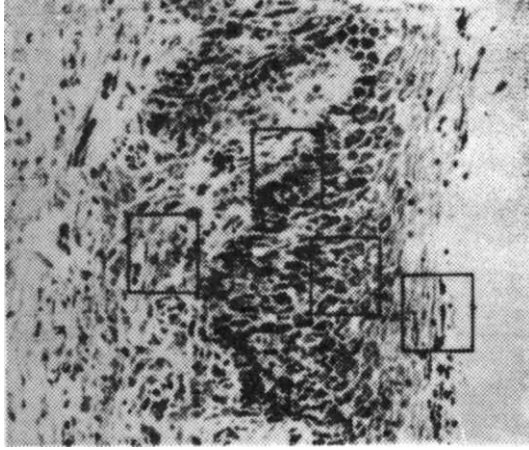
iltihaplı bağ dokuda yoğun iltahabi hücre infiltrasyonu ve kolagen kaybı bulguları. Ayrıca sulkus epitelinde çok sayıda polimorfonükleer lökositler mevcuttu.

Mekanik temizlik uygulanan dişeti bölgelerinde sulkus epitelinin koronal kısımlarında ince epitel çıkıntıları ve az miktarda iltahabi hücreler görüldü. Chx uygulanan dişeti bölgelerinde ise sulkus epitelinin koronal kısımlarında epitel-bağ dokusu yüzleşmesinin düzgün bir hat halinde olduğu, bağ dokuda ise ender iltahap hücreleri bulunduğu gözlemlendi. Hem Chx hem de mekanik temizlik grubu doku örneklerinde sulkus epitelinin sonlanma bölgesinde epitelin rete-peg yapıları ve proliferasyon göstermediği, bağ dokusunda tek tük iltahap hücreleri bulunduğu gözlemlendi.

Ayrıca Chx uygulanan bölgelerde oral gingival epitelde zaman zaman desquamasyon belirtilerine rastlandı.

Elektron mikroskopik gözlemler :

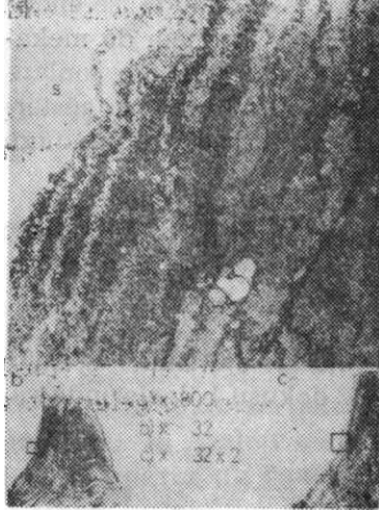
Elektron mikroskopik incelemeler sulkus epitelinde; epitelin yüzeyel orta ve basal tabakaları ile bağ dokusu bölgelerinde yapıldı.



Resim 2. Elektron mikroskopik incelemeler sulkus epitelinde, epitelin yüzeyel, orta ve basal tabakaları ile bağ dokusu bölgelerinde yapıldı.

1. Klinik sağlıklı dişeti: Bu grup örneklerin sulkus epitelinde yüzeyel hücrelerin yassı olup bazılarının nükleus içerdikleri görülmüştür. En yüzeyde desquame olmak üzere bulunan hücreler arasındaki boşluklar genişlemiştir. Orta ve basal tabakalara doğru inildikçe hücreler daha kübik hale gelmektedir. Hücreler arası mesafe genellikle dar olup, sitoplazma içinde na-

diren yağ damlacıkları vardır. Sulkus epitelinde zaman zaman genişlemiş hücreler arası boşluklara da rastlanmıştır. Bu genişlemiş boşluklar granüler bir madde içermektedir. Epitel hücreleri arasında nadiren lökositlere de rastlandı. Sağlıklı sulkus epitelinde desmozomal yapıların özelliklerini koruduğu ve tonofilamentlerin sitoplazma içinde periferal yerleşimde olduğu gözlemlendi.



Resim 3. Klinik sağlıklı sulkus epitelinde yüzeysel tabaka hücreler.

Epitel altı bağ dokusunda ise hücre popülasyonunda fibroblastların baskın olduğu bulgularıdır. Fibroblastlar klasik morfolojik özelliklere sahiptirler. Bağ dokuda hücreler arası maddeyi yoğun bir kollagen ağı oluşturuyordu.



Resim 4. Klinik sağlıklı dişeti dokularında bağ dokusu hücre popülasyonunda fibroblastların baskın olduğu görüldü.

2. Deneysel dişeti iltahabı: İltahaplı dişeti örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde, sulkus epitelinin hücreler arası boşluklarının genişlediği ve desmozomal kontaktların bozulduğu izlendi. Hücre içi lipid damlacıkları büyüklük ve sayı olarak artış gösteriyordu. Desmozomların bütünlüklerini kaybetmesiyle beraber tonofilamentlerde daha perinükleer alana doğru çekilmiş durumdaydılar. Genişlemiş hücreler arası boşluklardan çok sayıda lökositlerin, özellikle nötrofil granülositlerin, göç ettiği ve sulkus boşluğuna ulaştıkları gözlemlendi.



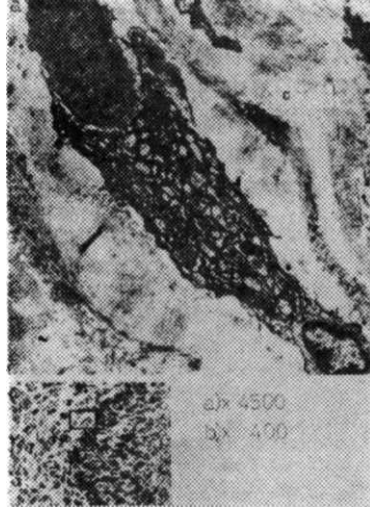
Resim 5. Deneysel dişeti iltahabında sulkus epitel hücreleri.

İltahaplı dişeti örneklerinde nötrofiller tarafından istila edilmiş bulunan geniş hücreler arası boşluklar elektron yoğun granüler bir madde içermekteydi.

Epitel altı bağ dokusunda ise nötrofil graniülositler, makrofajlar, ve lenfositlerden oluşan iltahabi hücre infiltrasyonunun varlığı gözlemlendi.

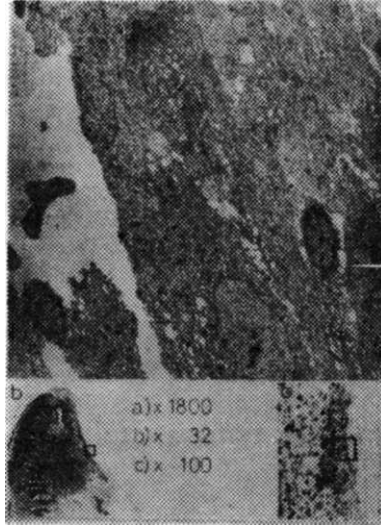
Bağ dokusunda yer yer kollagen kaybı ve lenfoid hücrelerle yakın temasta bulunan fibroblastlarda bazı sitopatik değişiklikler tespit edildi. Fibroblastlardaki bu değişiklikler boyutsal irileşme, mitokondrilerde krista kaybı ve bulanık şişme, ve endoplazmik retikulum keselerinin dilatasyonu ile karakterliydi.

3. Diş fırçalama ile elde edilen sağlıklı dişeti ve
4. Chx uygulanarak elde edilen sağlıklı dişeti:

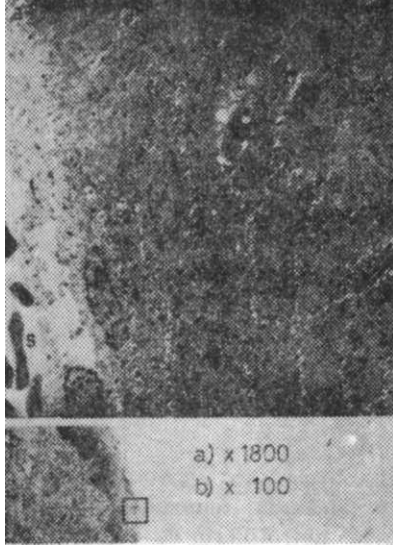


Resim 6. İltahaplı dişeti bat dokusunda lenfositlerle yakın temasta olan ve patolojik değişikliğe uğramış bir fibroblast.

Her iki grupta da sulkus epitelinin bütün tabakalarında hücreler arası boşlukların daraldığı desmozomal ilişkinin yeniden sağlandığı gözlemlendi. Epitel hücreleri arasında nadiren rastlanabilen iltahabi hücrelerin bazılarının dejenerasyon belirtileri gösterdikleri saptandı.



Besim 7. Mekanik temizlik grubunda sulkus epiteli.



Resim 8. Chx grubunda sulcus epiteli.

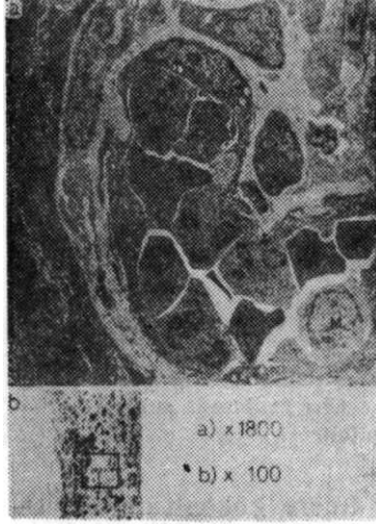
Epitel hücreleri arasında yer yer hücre kökenli olduğu sanılan artıklar gözlemlendi. Chx grubunda epitel hücreleri arasında çok nadir olarak ne olduğu belirlenemeyen, elektron yoğun partiküllerden oluşmuş kümelerle rastlandı.

Her iki grupta da epitel-bağ dokusu yüzleşmesinde bulunan bazal lamina, kesintisiz olarak devam ediyordu. Epitel altı bağ dokusunda az sayıda inflamatuvar hücrenin yanı sıra hücre popülasyonunda fibroblastların baskın olduğu bulundu.



Resim 9. Chx grubunda epitel bağ dokusu.

Yine her iki grupta nötrofil granülositler genellikle damar içi lokal izasyonda görüldüler.



Resim 10. Mekanik temizlik grubunda nötr of illerin damar içi lokalizasyonda bulunmaları.

TARTIŞMA

1956'da Sognaes ve Albright (45) tarafından oral mukoza'nın elektron mikroskopik incelenmesine ait ilk çalışmanın yayınlanmasını takiben gingival ve periodontal dokuları bu yolla inceleyen pek çok ultrastrüktürel çalışma literatürde yer almaya başladı (14, 37, 39, 46, 47). Normal dokuların elektron mikroskopik özelliklerinin belirlenmesinden sonra çalışmaların insanlarda (13, 40) ve hayvanlarda (16, 41, 42) normalden sapmış dokuların incelenmesine yöneldiği görülmektedir. Sınırlı düzeyde olmak üzere ülkemizde de belirtilen dokuları elektron mikroskopik olarak inceleyen çalışmalar vardır.

Çalışmamızın ana amacı sulkuler dokuların sağlıklı ve iltahaplı hallerinin incelenmesinden çok, iyi bir antibakteriyel ajan olarak bilinen Chx ve plak kontrolündeki değeri tartışma götürmeyen mekanik temizliğin, dişeti sağlığına etkilerinin ultrastrüktürel seviyede karşılaştırılmasıdır.

Deney hayvanı olarak kullandığımız köpek, daha önce periodontoloji literatüründe çok sayıda ve değişik türdeki çalışmalara konu edilmiş (3, 30, 31, 38, 43) ayrıca gingival ve periodontal dokularının yapı özellikleriyle insan örneğine yakın oldukları ortaya konmuş iyi bir modeldir (4, 15, 32).

Hücre membranını geçip, sitoplazmik içeriği çökeltmek suretiyle bakterinin ölümüne neden olan Chx'in (8) oral mikroflora üzerine etki ederek (36) plak birikimini önlediği (1, 22, 23); gingivitis oluşmasına izin vermediği (27); ve mevcut gingivitisini geriletmediği (6) yapılan çok sayıda hayvan (5, 9, 21) ve insan (10, 19, 27, 28) deneyleri ile kanıtlanmıştır.

Deney hayvanı olarak köpeğin, antiplak ajanların test edilmesinde uygun bir model olduğu (24) ve Chx'in köpekteki plak florasına insan örneğine benzer bir şekilde etki ettiğine dair raporlar (5, 9, 21) literatürde yer almaktadır.

Bu çalışmada amacımız gingivitis gelişimindeki patogenezi izlemek olmadığından deney öncesi periyotta oral hijyen uygulayarak tüm dentisyonda gingival sağlığa ulaşmak için çaba göstermedik.

Deneyisel gingivitis oluşturmada kullandığımız yöntem insan ve hayvanlarda yapılmış benzer çalışmalarda kullanılan modeller ile benzerlik taşımaktadır (3, 28, 30, 31, 33, 43, 49).

Amacımız periodontal dokularda yıkım yaratmak değil sadece gingivitis meydana getirmek olduğundan plak akümülasyonu yumuşak diyet verilerek hızlandırılmış, sonuçların çarpıtılmasından kaçınmak için herhangi bir retansiyon vasıtasından yararlanılmamıştır.

Deney başlangıcında kanin dişler yören hariç diğer bölgelerde klinik sağlıklı kriterlere sahip olan dişetleri plak akümülasyonu döneminde karakteristik gingivitis belirtileri gösterirken kanin bölgelerdeki mevcut yüzeysel gingivitis de şiddetlenmiştir.

Gerek deneyisel gingivitis oluşturulması döneminde gerekse sağlıklı dokuların saptanmasında klinik muayene ve plak boyama yöntemleri kullanılmıştır.

Işık mikroskopik ve elektron mikroskopik incelemelerimizi, gingival inflamasyonun başladığı bölge olması nedeniyle sulkuler dokularda gerçekleştirdik.

Klinik olarak sağlıklı kriterlere sahip dişeti örneklerinin ışık ve elektron mikroskopik incelemelerinde sulkus epiteli ve altındaki bağ dokusunda yer yer seyrek iltahabi hücreler ile karakterli hafif inflamasyon bulunduğunu gözledik. Bilindiği gibi klinik sağlıklı dişetlerinde yani G.I.:0 olduğunda dahi subklinik inflamasyon belirtilerine düzenli olarak rastlanabilmektedir (2, 20, 25).

Attström ve arkadaşları (4) uzun süre sistemli ve titiz plak kontrolü uyguladıkları köpeklerde subklinik damarsal reaksiyonların var olup olmadığını saptamak için gmgival sıvı akışı ve kreviküler lökosit sayımı gibi son derece hassas klinik ve laboratuvar tekniklerden yararlanmışlar, titiz plak kontrolü ve hasas değerlendirme yöntemlerine rağmen histolojik jncelemede iltahabi hücrelerden tamamen uzak sulkuler dokulara her zaman ulaşamamışlardır.

Klinik veriler dahilinde gingivitis¹ kararı verdiğimiz dokulara ait biyopsi örneklerinin ışık mikroskopik incelemesinde kronik iltahap hücrelerinin infiltrasyonu, epitelde proliferasyon ve bağ dokuda küllagen kaybı ile karakterli klasik inflamasyon belirtilerinin var olduğunu bulguladık. Iltahaph sulkus epitelinin elektron mikroskopik incelemesine ait bulgularımız kronik iltahanlı disetlerinde yapılmış ultrastrüktürel çalışmaların bulgularıyla benzerlik taşımaktadır (13,15,16,34); Epitel hücreleri arasındaki mesafenin genişlemesi ve desmosom kaybının artmış polimorf migrasyonuna bağlı olabileceği böylece bakteri kökenli toxin ve endotoxinlerin doku içine, gingival doku sıvısının da sulkus boşluğuna geçişindeki artışa genişlemiş hücreler arası mesafenin yol açtığı görüşü ileri sürülmüştür (13,16).

Sulkus epitelinin altındaki infiltre bağ dokusunda bulguladığımız sitopatik değişikliğe uğramış fibroblastlar başka araştırmacılar tarafından da bulgulanmış (11,41,42) ve bu fibroblastların kollajeni yıkımında rol alabileceği görüşü ileri sürülmüştür.

% 2 Chx'in günde bir kez topikal uygulaması ile supragingival plağın tamamen elimine edildiği bir çok çalışmada kanıtlanmış (27, 28, 36) ve bu yolla plak eliminasyonu bir çok deneysel çalışmada başarıyla kullanılmıştır (33, 51).

Diş fırçalamanın supragingival plak kontrolündeki etkisi de iyi bilinmektedir. ^x

Bu iki ayrı plak kontrolü yöntemini uygulayarak ulaştığımız klinik sağlıklı dişeti örneklerinin incelenmesinde kullandığımız teknik ve yöntemlerin sınırları dahilinde belirgin bir farklılık bulgulayamadık. Her iki grupta da subklinik inflamasyon belirtileri minimal düzeyde varlığını korurken bu tablo önemsiz ölçüde Chx grubunun lehine idi. Chx kullanımı supragingival plak oluşumunu tamamen engellerken subgingival plak oluşu-

fnunu engelleyememekte, ancak oluşma hızını yavaşlatmaktadır (51). Aynı durum mekanik temizlik için de geçerlidir.

Bu gerçeklerin ışığında, gerek Chx gerekse mekanik temizlik ile ulaştığımız klinik sağlıklı cüşetierinin sulkus bölgelerindeki minimal iltahabi cevabın sebebinin subgingival sahadan gelen düşük düzeydeki bakteriyel irritasyon olduğu düşünülebilir.

Her iki grupta da sulkus epitelinde az sayıda lökosit ve lenfosit görölürken, bu hücrelerden bazılarının dejenerasyon belirtilerine sahip olduklarını bulguladık. Chx uygulanan dokularda, epitel içinde çok nadir olarak, ne olduğu belirlenemeyen elektron yoğun küçük partiküllerden oluşan kümelere de rastladık. Epitel altı bağ dokusunda ise hücre popölasyonunun baskın olarak fibroblastlardan oluştuğu, tek tük lenfosit ve makrofaj tipi iltahap hücrelerine rastlandığı göröldü. Nötrofiller genellikle damar içi lokalizasyonda ve marginasyona uğramış olarak göröldüler. Bu tablo, mevcut minimal irritasyonun şiddeti arttığında nötrofillerin derhal damar dışına çıkmaya hazır olarak bekledikleri izlenimini uyandırmaktadır.

Chx uygulanan bölgelerde oral gingival epitelde yer yer rastladığımız desquamasyon belirtileri Chx'in nadir yan etkilerinden biri olarak bildirilmektedir (12).

Bu alışma sonucunda Chx ve mekanik temizliğin plak eliminasyonunu sağlayarak gingival sağlığı iade etmedeki etkinlikleri ultrastrüktürel düzeyde incelendi ve her iki yöntemin aynı ölçüde başarılı olduğu bulundu.

TEŐEKKÜR

Prof. Dr. Mahmut SAĞLAM ve Prof. Dr. Sâtı BARAN'a değerli yardımları için teőekkür ederiz.

ÖZET

DeneySEL gingivitis oluşturulmuş köpekte dişetin klinik sağlıklı ve iltahaplı durumları ile diş fırçalama veya Chx uygulaması yoluyla sağlıklı hale getirilmiş dişeti dokuları elektron mikroskopik olarak incelendi. Her iki yöntemle sağlanan plak kontrolünün dişeti sağlığını iade etmede benzer şekilde başarılı olduğu bulundu.

SUMMARY

ELECTRON MICROSCOPIC COMPARISON OF THE EFFECTS OF DIFFERENT MODES OF PLAQUE CONTROL ON THE GINGIVAL TISSUES OF A DOG WITH EXPERIMENTALLY INDUCED GINGIVITIS.

In a dog with experimentally induced gingivitis, clinically healthy and inflamed states of the gingivae were observed electron microscopically. Additionally the effects of tooth brushing and Chx application on the inflamed gingival tissues were studied with electron microscope. No significant difference was found between the effects of these two modes of plaque control, at an ultrastructural level.

TASARLANILAN KAYNAKLAR

1. ATNAMO, J.: Control of Plaque by Chemical Agents, J. Clin. Periodontol 4: 23-35, 1977.
2. ATTSTRÖM, R.: Presence of Leukocytes in Crevices of Healthy and Chronically Inflamed Gingiva, J. Perodont.Res. 5: 42-47, 1970.
3. ATTSTRÖM, R. and EGELBERG, J.: Presence of Leukocytes within the Gingival Crevices During Developing Gingivitis in Dogs, J. Periodont. Res. 6: 110-114, 1971.
4. ATTSTRÖM, R., GARF-DE BEER, M.-and SCHROBBER, H.E.: Clinical and Histological Characteristics of Normal Gingiva in Dogs, J. Periodont. Res. 10: 115-127, 1975.
5. BRINER, W.W. and WUNDER, J.A.: Sensitivity of Dog Plaque Microorganisms to Chlorhexidine During Longitudinal Studies, J. Periodont. Res. 12: 135-139, 1977.
6. BRINER, W.W. et. al.: Effect of Chlorhexidine on Plaque, Gingivitis and Alveolar Bone Loss in Beagle Dogs After Seven Years of Treatment, J. Periodont. Res. 15: 390-394, 1980.
7. CASE, D.J.D.: Safety of Hibitane L Laboratory Experiments, J. Clin Periodontol 4: 66-72, 1977.
8. DAVTES, A. : The Mode of Action of Chlorhexidine, J. Periodont. Res. 8: Suppl. 12: 68-75, 1973.
9. DAVJES, R.M. and HULL, P.S.: Plaque Inhibition and Distribution of Chlorhexidine in Beagle Dogs, J. Periodont. Res. 8: Suppl 12: 22-27. 1973.
10. DAVTES, R M : Use of Hibitane Following Periodontal Surgery, J. Clin. Periodontol 4: 129-135, 1977.
11. De RENZIS, F.J.L and CHEN, S.Y.: Ultrastructural Study of Cultured Human Gingival Fibroblasts Exposed to Endotoxin, J. Periodont/ 54: 2: 86-90, 1983.

12. FLOTRA, L.: Different Modes of Chlorhexidine Application and Related Side effects, *J. Periodont. Res.* 8: suppl. 12: 41-44, 1973.
13. FREEDMAN, H L, LISTGARTEN, MA. and TAICHMAN, NS.: Electron Microscopic Features of Chronically Inflamed Human Gingiva, *J. Periodont. Res.* 3: 313-327, 1968.
14. PURSETH, R.: The Fine Structure of Cellular Cementum of Young Human Teeth, *Arch. Oral Biol.* 14: 1147-1158, 1969.
15. GARANT, P.R. and MULVTHILL, J.E.: The Ultrastructure of Clinically Normal Sulcular Tissues in the Beagle Dog, *J. Periodont. Res.* 6: 252-265, 1971.
16. GARANT, P.R. and MULVTHILL, J.E.: The Ultrastructure of Leukocyte emigration Through the Sulcular Epithelium in the Beagle Dog, *J. Periodont. Res.* 6: 266-277, 1971.
17. GARANT, P.R. and CHO, M I.: Histopathogenesis of Spontaneous Periodontal Disease in Conventional Rats. Ultrastructural Features of the Inflamed Subepithelial Connective Tissue, *J. Periodont. Res.* 14: 310-322, 1979.
18. GJERMO, P.: Chemical Cleaning of-Teeth, In; Oral Hygiene, ed Frandsen, A, pp. 63-88 Copenhagen, Munksgaard, 1972.
19. GJERMO, P.: Halitane in Periodontal Disease, *J. Clin. Periodontol.* 4: 94-101, 1977.
20. GLICKMAN, I. and SMULOW, J.B.: Periodontal Disease, W.B. Saunders Co. Philadelphia, Landon, Toronto, 1974.
21. HAMP, S.E. and EMILSON, C.G.: Some effects of Chlorhexidine on the Paque Flora of The Beagle Dog, *J. Periodont. Res.* 8: Suppl. 12: 28-35, 1973.
22. HENNESSY, T.D.: Some Antibacterial Properties of Chlorhexidine *J. Periodont. Res.* 8: Suppl. 12: 61-67, 1973.
23. HENNESSY, T.D.: Antibacterial Properties of Halitane, *J. Clin. Periodontol.* 4: 36-48, 1977.
24. HULL, P.S, DAVIES, R.M. and LENNON, MA.: The Use of Beagle Dog as a Model System for Investigation of Anti-Plaque Agents, *J. Periodont. Res.* Suppl. 14: 37-38, 1974.
25. LISTGARTEN, MA and ELLEGAARD, B.: Experimental Gingivitis In the Monkey, *J. Periodont. Res.* 4: 199-214, 1973.
26. LOE, H, THEILADE, E. and BÖRGLUM JENSEN, S.: Experimental Gingivitis in Man, *J. Periodontol.* 36: May-June, 1965.
27. LÖE, H. and SCHIÖTT, R.C.: The Effect of Mouthrinses and Topical Application of Chlorhexidine on the Development of Dental Plaque and Gingivitis in Man, *J. Periodont. Res.* 5: 79-83, 1970.
28. LÖE, H.: Does Chlorhexidine Have a Place in the Prophylaxis of Dental Disease, *J. Periodont. Res.* 8: Suppl. 12: 93-99, 1973.
29. LÖVDAL, A., ARNO, A and WAERHÄUG. J.: Incidence of Clinical Manifestations of Periodontal Disease in Light of Oral Hygiene and Calculus formation, *J.AJD.* 56: 21-33, 1958.
30. MATTSON, L. and ATTSTRÖM, R.: Development of Experimental Gingivitis in the Juvenile and Adult Beagle Dog, *J. Clin. Periodontol.* 6: 186-193.

31. MATTSON, L. and ATTSTRÖM, R.: Histologic Characteristics of Experimental Gingivitis in the Juvenile and Adult Beagle Dog, *J. Clin. Periodontol.* 6: 334-350, 1979.
32. MATTSON, L., THEILADE, J. and ATTSTRÖM, R.: Electron microscopic Study of Junctional and Oral Gingival Epithelia in the Juvenile and Adult Beagle Dog. *J. Clin. Periodontol.* 6: 425-436, 1979.
33. OLIVER, R.C. and EGELBERG, J.: The Effect of Topical Application of Chlorhexidine on subgingival Microbial Colonization, *J. Periodont. Res. Suppl.* 14: 8, 1974.
34. ROSS, JR. and APP, G.R.: Observation of the Morphology of the Sulcular Epithelium of Clinically Infamed and Clinically Healthy Gingiva, *J. Periodont.* 46: 1: 57-62, 1975.
35. RUSHTON, A.: Safety of Hbitane, a Human Experience, *J. Clin. Periodontol.* 4: 73-79, 1977.
36. SCHIÖTT, C.R. : Effect of Chlorhexidine on the Microflora of the Oral Cavity, *J. Periodont. Res.* 8: Suppl. 12; 7-10, 1973.
37. SCHROEDER, H.E. and THEILADE, J. : Electron Microscopy of Normal Human Gingival Epithelium, *J. Periodont. Res.* 1: 95-119, 1966.
38. SCHROEDER, H.E., GRAF-De BEER, M. and ATTSTRÖM, R. : Initial Gingivitis in Dogs, *J. Periodont. Res.* 10: 128-142, 1975.
39. SELVIG, K.A.: The Fine Structure of Human Cementum, *Açta Odont. Scand.* 23: 423-441, 1965.
40. SELVIG, K.A. : Ultrastructural Changes in Cementum and Adjacent Connective Tissue in Periodontal Disease, *Açta Odont. Scand.* 24: 459-500, 1965.
41. SIMPSON, D.M. and AVERY, B.E. : Pathologically Altered Fibroblasts within Lymphoid Cell Infiltrates in Early Gingivitis, *J. Dent. Res.* 52: 5: 1156, 1973.
42. SOAMES, J.V. and DAVIES, R.M. : Intracellular Collagen Fibrils in Early Gingivitis in the Beagle Dog, *J. Periodont. Res.* 12: 378-386, 1977.
43. SOAMES, J.V. and DAVIES, R.M.: Lymphocyte-Macrophage and Lymphocyte-Lymphocyte Associations in Early Gingivitis in Beagle Dogs, *J. Periodont. Res.* 15: 341-344, 1980.
44. SOCRANSKY, S.S. : Relationship of Bacteria to The Etiology of Periodontal Disease, *J. Dent. Res. Suppl.* (2) 49: 203-222, 1970.
45. SOGNAES, R.F. and ALBRIGHT, J.T.: Preliminary Observations on the Fine Structure of Oral Mucosa, *Anat. Rec.* 126: 225-239, 1956.
46. STREN, J.S.: An Electron Microscopic Study of the Cementum, Sharpey's Fibers and Periodontal Ligament in the Rat Incisor, *The Amer. J. of Anat.* 115: 3: 377-409, 1964.
47. STERN, I.B.: Electron Microscopic Observations of Oral Epithelium, I. Basal Cells and the Basement Membrane, *J. Amer. Soc. Periodont.* Sept.-Oct. : 224-238, 1965.
48. STRAHAN, J.D., BASHAARAT, A. and GREENSLADE, R.N. : Control of Plaque by Non-Chemical Means, *J. Clin. Periodontol.* 4: 13-22, 1977.

49. THEILADE, E. et al. : Experimental Gingivitis in Man II. A longitudinal Clinical and Bacteriological Investigation, *J. Periodont. Res.* 1: 1-13, 1966.
50. THEILADE, J.: Development of Bacterial Plaque in The Oral Cavity, *J. Periodontol.* 4: 1-12, 1977.
51. Van DĪJK, L.J. and WRIGHT W.H. : Effect of Oral • Hygiene on the Results of Periodontal Surgery in Beagle Dogs with Artificially Created Defects, *J. Periodontol.* 54: 5: 291-298, 1983.
52. W.H.O.: Epidemiology, Etiology and Prevention of Periodontal Disease: Report of a W.H.O. Scientific Group, W.H.O. Geneva, Tech. Rep. Series no. 621.