

MENSTÜRAL SIKLUSUN DEĞİŞİK DÖNEMLERİNDE EPİTELYAL ALKALİ FOSFATAZ DEĞİŞİMLERİ

CHANGES IN ORAL EPITHELIAL ALKALINE POSPHATASE IN VARIOUS PHASES OF MENSTRUAL CYCLE

Necla TİMOÇİN (*) - Ayşegül APAYDIN (**)

Anahtar Sözcükler : Alkali fosfataz, ağız epiteli, mestüral siklus.

Bu çalışma menstüral siklusun değişik fazlarında kan ve dişeti epiteli alkali fosfataz (ALP) düzeylerini saptamak amacıyla yapıldı. 22 sağlıklı bireyin menstüral periyotlarının 5. 11. 14. 16. ve 24 günlerinde kan örnekleri alınarak incelendi. Kan alkali fosfataz düzeyleri Bessey-Lowry-Brock yöntemine göre saptandı. Alınan oral smearler ise Gomori'nin Alkali Fosfataz yöntemine göre boyanarak ışık mikroskobunda incelendi. Belirlenen ALP düzeyleri, preparatların, histolojik incelemesi ve laboratuvar bulguları kıyaslanarak değerlendirildi.

Key Words : Alkaline phosphatase, oral epithelium, menstrual cycle.

This study was done in order to determine the levels of Alkaline Phosphatase (ALP) in blood and in oral epithelium, in various phases of menstrual cycle. Blood samples and oral smears of 22 healthy subjects were taken in the 5., 11., 14., 16., and 24 day of their menstrual cycle and they were investigated. The levels of alkaline phosphatase in blood were determined as a procedure of Bessey-Lowry-Brock. The oral smears, obtained, were dyed, this was effected as a procedure of Gomori's Alkaline Phosphatase and investigated in a light microscope. The ALP levels, determined, and histological investigation were evaluated, compared with the laboratory findings.

GİRİŞ

Alkali fosfataz fosfatları alkalen bir pH'da hidroliz eden bir enzimdir. Hücrenin gelişme ve bölünmesi için gerekli olan nukleoproteinlerin oluşumunda rol oynar. Mukopolisakkarit ve kollagen sentezinde, kalsifikasyonda, membran geçirgenliğinde etkilidir (1, 9, 18).

Alkali fosfataz (ALP) ençok kemik, karaciğer, böbrek, süt veren meme bezleri ve plasenta gibi yerlerde bulunur (19).

ALP'nin erişkinlerdeki normal düzeyleri (Bessey-Lowry-Brock yöntemine göre 0.8-2.9 BLB ünitesidir) (18), büyük ölçüde karaciğerden gelmektedir. Çocuklarda ise yüksek osteoblastik aktivite sebebiyle

daha yüksek bir düzey söz konusudur. Gebelerde plasenta tarafından ısıya dirençli bir ALP üretilmesi sebebiyle normal değerlerde bir artış görülür.

Kan plazmasındaki ALP değerleri klinik olarak kemik ve karaciğerle ilgili disfoksasyonların saptanmasında büyük önem taşımaktadır (19).

Kemik, karaciğer hastalıkları ve barbitürat türü ilaçlarla indüksiyonda plasma ALP düzeyinde artış; kemik gelişiminde durma ve hipofosfatazi nedeni ile de ALP düzeyinde azalma görülür (1, 19).

ALP'nin diş ve dişeti dokularındaki normal ve patolojik oluşumlardaki düzeyi birtakım araştırmacılar tarafından histokimyasal olarak gösterilmiştir (6, 8, 10, 12, 16).

(*) Prof. Dr., İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı

(**) Dr., İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Araştırma Görevlisi

ALP osteoblastlarda, odontoblastlarda, dişeti papilinin bağ dokusu hücrelerinde gözlenmiş ve dişeti oluşu likitinde serumdakinden daha yüksek bir ALP aktivitesi bulunmuştur (6).

ALP'nin granülasyon dokusunda kan damarlarının endotelinde ve dişeti epitelinin basal tabakasında lokalize olduğu ve aktivitesinin iltihaplı odaklarda yüksek olduğu gösterilmiştir (13).

Dev hücreli reperatif granülomalarda, fibrosit ve fibroblastlarda; fibromlarda ise bağ dokusu liflerinde normal dişeti dokusuna oranla daha yüksek bir ALP düzeyi olduğu bildirilmiştir (15).

Sarkoid ve karsinomatöz nodüllerde serumdakinden daha yüksek bir ALP aktivitesi saptanmıştır (10).

Hücre içi enerji üretimi için gerekli olan ALP dental pulpada anaerobik glikoliz esnasında histokimyasal olarak gösterilmiştir (8).

Enzimlerin çalışması ile hormonlar arasında yakın bir ilişki bulunmaktadır. Kadınlarda puberte, menstürasyon, gebelik ve menapozda hormon-enzim faaliyetlerindeki denge bozuklukları sebebiyle dişetlerinde hafif hiperemi ve ödemden gingival hiperplazilere kadar değişen boyutlarda çeşitli değişiklikler olabilmektedir (8, 12).

Östrojenler ve progesteron menstüral periyodu ve bu dönemdeki fizyolojik değişiklikleri ayarlayan ve birbiri ile dengeli olarak çalışan iki hormondur (11).

Menstüral periyodun ilk yarısında (folliküler faz) follikül uyarıcı hormon (FSH) ovarial follikülerin gelişmesini ve lüteinleştirici hormon (LH) ile beraber etki göstererek bu follikülerin östrojen salgılamasını stimüle eder. Başlangıçta plazma östrojen düzeyleri düşük ise de sürekli artarak pre-ovulatuvar bir doruğa ulaşır. Feed-back süpresyonu sonucu FSH düzeyi hafifçe düşer.

Östrojen düzeyinin doruk noktasına çıkışını izleyerek LH ve -daha az derecede olmak üzere- FSH salgılanmasında ani bir artış olur. LH miktarının artmasıyla tam olgunlaşan follikül (Graaf follikülü) çatlayarak (ovülasyon) korpus luteum oluşur. Bu kanamadan önceki 15. güne rastlar.

Gebelik olmadığı durumlarda korpus luteum ortalama 10-12 gün sonra involüsyona uğrar. Daha

sonra progesteron ve östrojen düzeyleri keskin bir şekilde hızla düşer. Endometrium yıkılır ve menstürasyon görülür (3, 9, 11, 17, 19).

Bazı araştırmacılar tarafından yapılan testler ve hayvan deneyleri, cinsiyet hormonları düzeylerinin değişimine bağlı olarak oral ve vajinal mukozada birtakım değişiklikler olduğunu ve ALP aktivitesinin de bu hormonlardan etkilendiğini göstermektedir (5, 7, 12, 16).

Dişilerde cinsiyet hormonları düzeyleri menstüral periyodun değişik dönemlerinde farklılıklar gösterdiğine göre, biz de ALP aktivitesinin benzer bir değişim gösterebileceği düşüncesiyle; dişeti epiteli ALP düzeyinin bir ovulasyon periyodunun saptanmasında yardımcı olup olamayacağını araştırmak için siklusun değişik fazlarındaki ALP aktivitesini belirlemeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma seksüel olgunluğa erişmiş 21-24 yaşları arasında İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesinin 22 kız öğrencisinde yapıldı. Herhangi bir jinekolojik rahatsızlığı olmayan bir öğrencilerden ayrıntılı menstüral anamnez alındı. Hiçbir sistemik rahatsızlığı olmayan deneklerimiz gebe değildi ve testen en az altı ay öncesine kadar herhangi bir hormonal tedavi görmemişlerdi. Hepsinin normal bir menstüral periyodu ve iyi bir ağız hijyeni vardı.

Dernekler periyotlarının 5. , 11. , 14. ,16. ve 24 günlerinde sabah saat 09.00-10.00 arası çağırıldı. Ağızları % 0.1'lik permanganatlı su ve daha sonra musluk suyu ile çalkalattırıldı. Smear'ler oral mukozadan bir raspatuar yardımı ile sürtülerek alındı. Lam üzerinde yayma preparatı hazırlanarak +4 °C % 80 alkolde 2 dakika fikse edildi. Oda sıcaklığında 5-10 dakika tutulan smearler Gomori'nin Alkali Fosfataz yöntemine göre boyandı (4).

Histokimyasal boyama İ. Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında yapıldı.

Ayrıca 5. , 11. , 14. , 16. ve 24. günlerde kandaki alkali fosfataz düzeyini de saptamak amacıyla deneklerden aynı günlerde alınan kan örnekleri İ. Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Biyokimya Laboratuvarında incelendi.

Kandaki alkali fosfataz düzeyi Bessey-Lowry-Brock yöntemine göre saptandı (18). Sonuçlar Tecnican RA-1000 seçimli analiz sisteminde değerlendirildi.

BULGULAR

22 Dişhekimliği öğrencisinde yapılan bu çalışmada 5. , 11. , 14. , 16. ve 24. günlerdeki alınan kan örnekleri ve oral mukozadan alınan smear'ler incelendi.

Deneklerden alınan kan örneklerinin Bessey-Lowry-Brock yöntemine göre saptanan alkali fosfataz düzeyleri periyodun değişik dönemlerinde 1-2 ünitelik farklılıklar gösterdi. Bu değerler insanda alkali fosfatazın normal düzeyi olan 0.8-2.9 BLB ünitesi arasında değişiyordu.

Menstüral siklusun belli günlerinde alınan ve yayma prepatalarında Gomori'nin alkali fosfataz yöntemine göre boyanan oral smear'ler ışık mikroskobunda incelendi. Alkali fosfataz aktivitesi pozitif olan yerler kahverengi-siyah görüldü (Resim 1, 2, 3, 4, 5).

Alkali fosfataz aktivitesinin yoğunluğu, bir lameldeki tüm hücreler değerlendirilerek alınan kantitatif sonuçlara göre % olarak gösterildi.

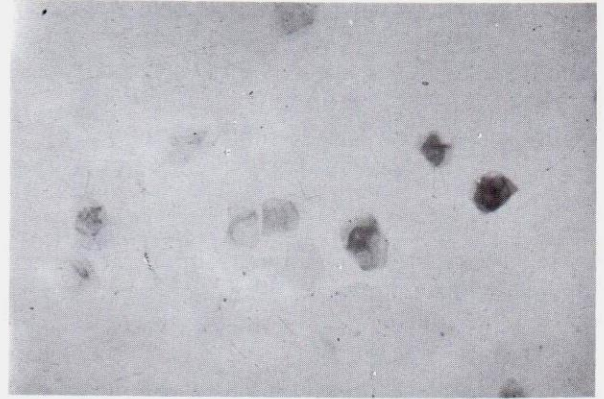
Bu değerlere göre alkali fosfataz aktivitesinin 5. günlerde henüz başladığı, 11. günlerde yükseldiği, 14. günlerde artışın sürdürerek 16. günde en yüksek düzeyine ulaştığı ve 24. güne doğru ise düşme kaydettiği saptandı (Tablo 4).

Kan ve smear'lerdeki alkali fosfataz düzeylerinin istatistiksel değerlendirilmesi eşleşmiş serilerde t testine göre yapıldı.

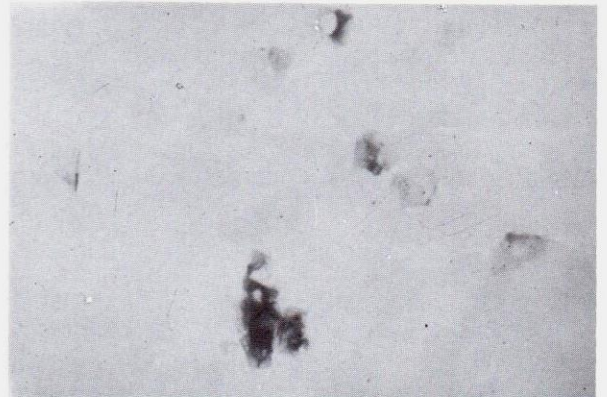
5. güne göre kan alkali fosfataz düzeylerinin istatistiksel değerlendirilmesinde menstüral siklusun çeşitli dönemlerinde değerler arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 1,5).

Gün	t _c	P
5-11	0.7867	0.5 < p < 0.9
5-14	0.9932	0.30 < p < 0.50
5-16	1.1364	0.20 < p < 0.30
5-24	0.4695	0.50 < p < 0.90

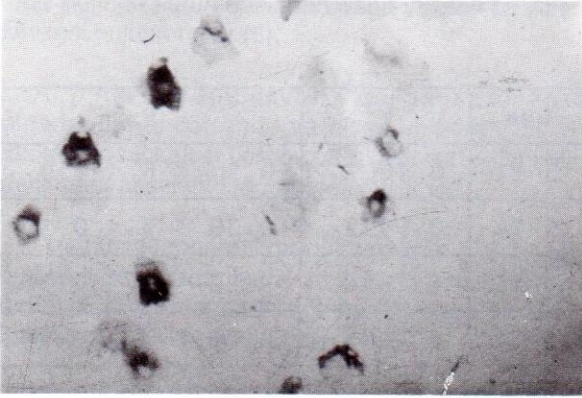
TABLO 1
5. güne göre kan ALP değerlerinin istatistiksel karşılaştırması (Anlamlı fark görülmedi)



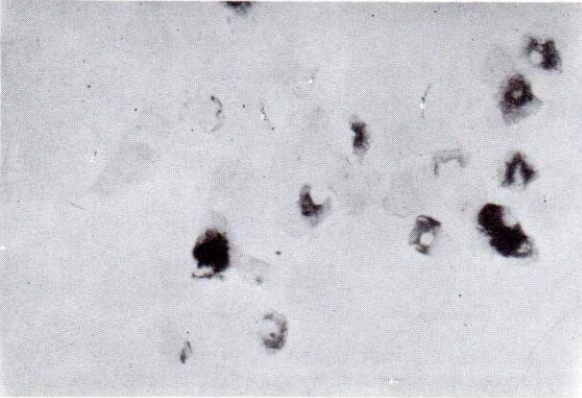
RESİM: 1 5. günde alınan oral smear (histolojik görüntü) 200x.



RESİM: 2 11. günde alınan oral smear (histolojik görüntü) 200x.



Resim : 3 14. günde alınan oral smear (histolojik görüntü) 200x.



Resim : 4 16. günde alınan oral smear (histolojik görüntü) 200x.



Resim : 5 24. günde alınan oral smear (histolojik görüntü) 200x.

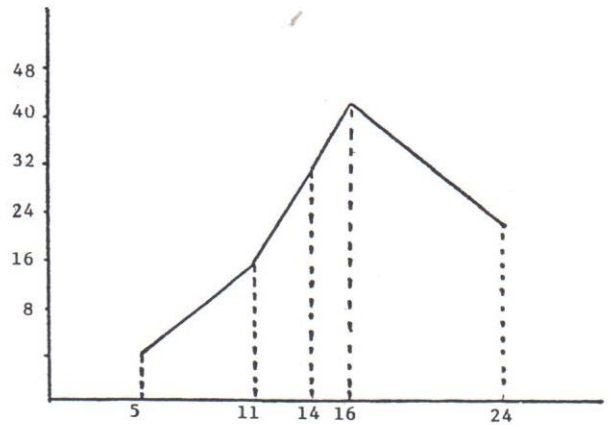
Aynı günlerde alınan oral smear'lerin alkali fosfataz düzeyleri arasında ise, 5. güne göre yapılan istatistiksel değerlendirmede değişik dönemler arasında anlamlı farklılıklar saptandı (Tablo 2, 3, 4).

Gün	t	P
5-11	12.2975	p < 0.001
5-14	14.5222	p < 0.001
5-16	15.0484	p < 0.001
5-24	2.0777	0.02 < p < 0.05

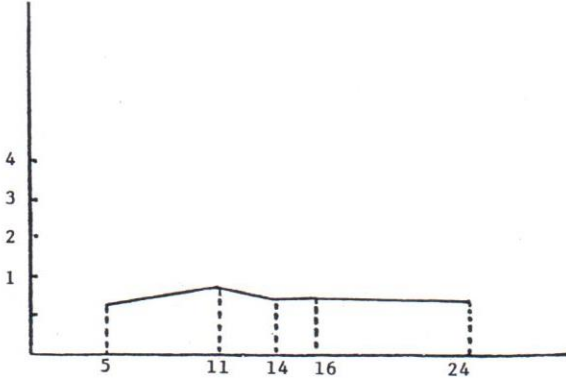
TABLO 2
5. güne göre smear ALP düzeylerinin istatistiksel değerlendirmesi (Farklar anlamlı bulundu)

11	20.068
14	30.505
16	38.095
24	3.705

TABLO 3
5. güne oranla smear'deki ALP düzeylerinde meydana gelen artışların ortalaması



TABLO 4
Günlere göre smear'deki ALP değerleri ortalamaları



TABLO 5
Günlere göre kan ALP değerleri ortalamaları

TARTIŞMA

Yaptığımız bu çalışmanın sonuçları ağız epiteli ALP aktivitesi ile cinsiyet hormonları arasında ilgi olduğunu göstermektedir. Menstrüal dönemin çeşitli fazlarında değişen östrojen ve progesteron düzeylerine göre ALP aktivitesi de farklılık göstermektedir.

Kamel ve Atkinson fare vajinal epitelinde yaptıkları çalışmada endometrial ALP ve sitoplazmik RNA üzerinde östrojen ve progesteronun benzer etkileri olduğunu ortaya koymuşlardır (7).

Ring ve Levy östrojen verilmiş sıçanların ağız epitelinde ALP aktivitesinde bir artış gözlediklerini belirtmişlerdir (12).

Tiwari ve arkadaşları 60 dişi sujede yaptıkları çalışmada ağız epitelindeki ALP miktarı ile cinsiyet hormonlarının direkt ilgisine dikkati çekmişlerdir (16).

Andersen ve Belding östrojenin etkilerini saptamak için vajinal ve oral mukozada yaptıkları çalışmada, hormonların düşük ve yüksek düzeylerine bir cevap olarak oral mukozadan alınan örneklerde değişen derecelerde keratinizasyon saptamışlardır (2).

Stovan ve Spalov, normal menstrüal siklusları olan kadınlarda oral ve vajinal smear'lerin karşılaştırılması için yaptıkları çalışmada

buccositogramlarda eosinofilik ve karyopiknotik indislerin menstrüal siklusa bağlı ritmik değişimler gösterdiğini bildirmişlerdir (14).

Biz çalışmamızda menstrüal siklusun çeşitli fazlarında alınan oral smear'lerin incelenmesinde ağız epiteli ALP düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptadık.

Aldığımız kan örneklerinde Bessey-Lowry-Broc yöntemine göre belirlenen ALP düzeyleri her denek için normal sınırlar (0.8-2.9 BLB ünitesi) içinde idi. Menstrüal siklusun değişik dönemlerinde görülen 1-2 ünitelik farklılıkları, bu dönemdeki hormonların düzeylerinin değişimi ile ilgili olarak anlamlı bir fark oluşturmuyordu.

Menstrüal periyodun ilk yarısında (folliküler faz) Graaf folliküleri östrojen salgılamaya başlar (11, 17, 19). Bu dönemde aldığımız smear'lerdeki ALP düzeyi hemen her birey için en düşük değeri gösteriyordu.

11. günde aldığımız ALP değerleri 5. günde aldıklarımıza oranla oldukça yüksekti.

14. günde aldığımız ALP değerleri de bir öncekilere oranla daha yüksekti. Bu sonuçlar bu dönemde seviyesi giderek artan östrojen düzeyi ile paralellik gösteriyordu.

16. günde saptadığımız değerlere göre ALP düzeyleri en üst seviyede idi. Bu dönemde östrojen ile birlikte progesteron da salgılanmakta ve bu sonuçlar ALP düzeyinin östrojenden olduğu kadar progesterondan da etkilendiğini düşündürmektedir.

Periyodun ikinci yarısında (luteal faz) salgılanmaya başlayan progesteronla birlikte östrojen düzeyi gebelik olmadığı hallerde hızla düşmeye başlar (11, 17). Bu dönemde aldığımız sonuçlara göre ALP düzeyleri östrojen ve progesteron düzeyleri ile doğru orantılı olarak düşüktü.

Menstrüasyondan önceki 15. günde Graaf follikülü çatlayarak korpus luteum oluştuğuna göre 16. günde epitel ALP düzeylerindeki artışı normal bir ovulasyon izlemektedir.

Elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak, ağız epitelindeki ALP düzeyi araştırmasının bir periyot boyunca incelenmesi halinde ovulasyon zamanının

saptanmasında yardımcı olabileceği sonucu çıkarılabilir.

Bu çalışmada menstüral siklusun değişik fazlarında aldığımız kan örnekleri incelendiğinde bulduğumuz birkaç ünitelik farklılıklar istatistiksel olarak önemsizdir.

Yine aynı deneklerden aynı günlerde aldığımız ve Gomori'nin ALP yöntemine göre boyayarak ışık mikroskopunda incelediğimiz oral smear'lerde ise menstüral periyodun çeşitli fazlarında, istatistiksel olarak anlamlı olan farklı ALP düzeyleri saptadık.

Bulgularımız (oral smear'leri inceleyerek elde ettiğimiz ALP düzeyleri) menstüral dönemin değişik

fazlarında seviyeleri değişen östrojen ve progesteron düzeyleri ile doğru orantılıdır.

Tüm bu sonuçlar dikkate alındığında bir menstüral siklus boyunca epitel dokusu ALP düzeyinin araştırılması muhtemel ovulasyon gününün saptanmasında yardımcı olabilir.

Menstüral siklusun değişik fazlarında ağız epitelindeki ALP aktivitesi farklılıklarının, dokunun fizyolojik ve morfolojik olarak matürasyon değişimine neden olup olmadığının incelenmesi daha sonraki bir çalışmamızın kapsamı içinde düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Adams, R. D., Braunwald, E., Petersdorf, R. G., et al : *Harison's Principals of Internal Medicine*, 9. ed., Mc Graw-Hill, New York, 1980.
- 2- Andersen, W. R., Belding, J., Oral cytology. A hormonal evaluation. *J Obs and Gynecol.*, 13 :81, 1969.
- 3- Arsan, K. : *Kadın Hastalıkları, Çeltüt Matbaacılık, İstanbul, 1983.*
- 4- Bancroft, J. D., Stevens, A. : *Theory and practice of histological techniques*, Churchill Livingstone, Edinburg, London, 1977.
- 5- Choe, J. K., Dawood, S. K., Dawood, M. Y. : Progesterone and estradiol in saliva and plasma during the menstrual cycle, *Am J Obstet Gynecol*, 1 : 147 (5) : 557, 1983.
- 6- Ishikawa, I., Cimasoni, G. : Alkaline phosphatase in human gingival fluid and its relation to periodontitis. *Acta Oral Biol*, 15 : 1401, 1970.
- 7- Kamell, S. A., Atkinson, W. B. : Effects of ovarian hormones on certain, cytoplasmic reactions in the vaginal epithelium of the mouse, *Proc Soc Exper Biol and Med*, 68 : 537, 1948.
- 8- Lavelle, C. L. B. : *Applied physiology of the mouth. John Wright and Sons Lim., Bristol, 1975.*
- 9- Montgomery, D. A. D., Welbourn, R. B. : *Medical and Surgical Endocrinology*, Edward-Arnold, London, 1975.
- 10- Palva, T., Raunio, V., Nousianen, R. : Alkaline and phosphatase activity in sarcoid lymph nodes, *Acta Path Microbiol Scand, Sec. A*. 81 : 577, 1973.
- 11- Riley, M. G. : *Gynecologic Endocrinology*, Hoeber-Harper Book; New York 1959.
- 12- Ring, J. R., Levy, B. : Changes in alkaline phosphatase activity of rat oral epithelium during the estroz cycle and in response to administered estrogen, *J Dent Res*, 29 : 817, 1950.
- 13- Stambolieva, E., Bourkova, I. : Comparative enzymatic histochemical investigations of gingival papillae in early paradontosis and paradontitis traumatica. *J Periodontol*, 41 : 532, 1970.
- 14- Stovan, I. D., Spalov, S. A. : Comparison of oral and vaginal smears in women with normal menstrual cycles. *Acta Cytol*, 14 : 31, 1970.
- 15- Suaboda, O., Lojda, Z., Skach, M. S. : Distribution of some enzymes in the soft tissues of the oral cavity., *J Dent Res*, 38 : 443, 1959.
- 16- Tiwari, B. U., Ganeriwal, S. K., Athowale, V. R. : Oral epithelial alkaline phosphatase in various phases of menstrual cycle, *Indian J Physiol Pharmacol*, 28 (2) : 149, 1984.
- 17- Tözüm, R., Onarr, R. : *Jinekoloji, Yörük Matbaası, İstanbul, 1969.*
- 18- Yenson, M. : *Klinik Biyokimya Laboratuvar Çalışmaları, Sanal Matbaacılık, İstanbul, 1982.*
- 19- Zilva, J. F., Pannal, P. R., (Çeviren : Özgünen, T.) : *Semptom ve Teşhiste Laboratuvar, Sanem Matbaası, Ankara, 1978.*

YAZIŞMA ADRESİ :

NECLA TİMOÇİN
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
DİŞHEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ÇAPA - İSTANBUL