

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

138451

**PUBERTA DÖNEMİNDEKİ BİREYLERDE
KLİNİK PERİODONTAL BULGULAR VE DİŞETİ DOKUSU
ÖRNEKLERİNDE CD4,CD8,CD16+56 HÜCRESİ
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ BUNLARIN KLİNİK
PARAMETRELER İLE İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dt.Turgut DEMİR

138451

**Tez Yöneticisi
Doç.Dr.Recep ORBAK**

**TC. YÜSEFİKÖRÜKÜTÜ KÜLTÜR
DOKÜMANLARI**

**Doktora Tezi
Erzurum-2002**

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI**

**PUBERTA DÖNEMİNDEKİ BİREYLERDE
KLİNİK PERİODONTAL BULGULAR VE DİŞETİ DOKUSU ÖRNEKLERİNDE
CD4,CD8,CD16+56 HÜCRESİ DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ BUNLARIN
KLİNİK PARAMETRELER İLE İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dt.Turgut DEMİR

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 27.11.2002

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 10.12.2002

Tez Danışmanı : Doç.Dr. Recep ORBAK

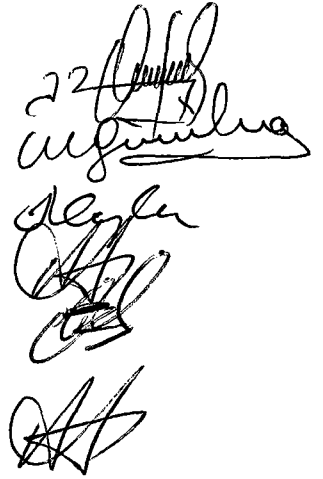
Jüri Üyesi : Prof.Dr. Meral GÜNHAN

Jüri Üyesi : Prof.Dr. İsmail CEYLAN

Jüri Üyesi : Doç.Dr. Adnan TEZEL

Jüri Üyesi : Doç.Dr. Varol ÇANAKÇI

Enstitü Müdürü : Doç.Dr.Adnan TEZEL

22


Aralık 2002

ERZURUM

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA NO</u>
1. ÖZET	III
2. SUMMARY.....	IV
3. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
4. GENEL BİLGİLER.....	3
1.1. Gingivitis.....	3
1.2. Dişeti Hastalıklarının Sınıflandırılması.....	3
1.3. Histopatolojik Değişiklikler.....	9
1.4. Puberta ve puberta gingivitisi.....	12
1.5. Puberta gingivitisin epidemiyolojisi.....	14
2.1. Hormonlar.....	17
3.1. İmmunoloji.....	20
3.1.1. Periodontal Hastalıklardaki T Lenfositler ve Alt Grupları.....	20
3.1.2. Lenfositler.....	21
5. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
1.1. Hasta seçimi ve Klinik değerlendirme.....	28
1.2. Flow Cytometry ile T-Lenfosit Alt gruplarının Değerlendirilmesi.....	30
1.3. Kan Örneklerinin Alınması.....	33
1.4. El-Bilek filmlerinin incelenmesi.....	35
6. BULGULAR.....	38
7. TARTIŞMA.....	44
8. SONUÇLAR	58
9. KAYNAKLAR.....	59

TEŞEKKÜR

Çalışmamın başından beri büyük ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim değerli hocam Doç.Dr.Recep ORBAK'a tez çalışmam esnasında değerli fikirlerinden yararlandığım ve yardımlarını gördüğüm hocalarım Doç.Dr.Adnan TEZEL ve Doç.Dr.Varol ÇANAKÇI'ya teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca bu yoğun dönemde benden desteğini ve yardımını esirgemeyen eşime teşekkür ederim.

ÖZET

Sağlıkta patojen organizmalar ve konak savunma sistemi arasında bir denge vardır. Bu denge virulans faktörler lehine döndüğü zaman hastalık ortaya çıkar. Supragingival ve subgingival bölgede kolonize olan bakteri plağı ve bakteri plağının metabolik ürünleri hümmoral ve sellüler immün sistemlerde aktif olabilirler. Hümmoral immün yanıt esas itibarıyla bakteri plağına karşı üretilen antikorları içermesine rağmen, sellüler immün yanıt gingival lezyonda var olan bir hücre popülasyonunu ifade etmektedir. Bu çalışmadaki amacımız puberta gingivitisli hastalara etki eden immünoregülasyon mekanizmalarının belirlenmesi amacıyla lokal düzeyde $CD4^+$, $CD8^+$ ve $CD16^+$ + 56^+ lenfosit oranlarının tespitedilmesidir. İlave olarak konvansiyonel tedavi uygulamalarından sonra puberta gingivitisli hastalarda T-lenfositlerinin alt gruplarında değişiklik olup olmadığını değerlendirmektir. Adolesan çağıdaki 40 birey üzerinde yapıldı (puberta gingivitisli 20 ve sağlıklı 20 birey). Biyopsi örnekleri hastaların gingivitisli bölgelerindeki gingival dokudan alındı. Daha sonra $CD4^+$, $CD8^+$ ve $CD16^+$ + 56^+ lenfosit değerleri ve $CD4^+/CD8^+$ oranı biyopsi örneklerinde flow cytometry kullanılarak belirlendi. Bireylerde periodontal durumu belirlemek için aynı anda gingival indeks (Löe-Silness) ve plak indeks (Silness-Löe) skorları kaydedildi. Tedaviden önce ve tedaviden sonra elde edilen klinik ölçümler ve laboratuvar sonuçları arasında ki farklılıkları karşılaştırmak için eşleştirilmiş *t-test*'i ve student *t test*'i kullanıldı. Puberta gingivitisli hastalarda $CD4^+$, $CD8^+$ ve $CD16^+$ + 56^+ lenfosit değerleri sırasıyla % 23.50 ± 4.86 , % 13.81 ± 3.6 ve % 12.63 ± 2.78 olarak bulundu. Değerler kontrol grubunun değerlerinden daha düşüktü. $CD4^+$ değeri konvansiyonel tedavi ile % 27.50 ± 4.15 değerine yükseldi. Benzer bulgular $CD8^+$ lenfosit değerleri içinde bulundu. $CD8^+$ lenfosit değeri konvansiyonel tedavi ile % 17.63 ± 2.42 değerlerine yükseldi. Bununla birlikte, konvansiyonel tedavi sonrasında $CD4^+/CD8^+$ oranı düştü. Bu azalma istatistiki açıdan anlamlı idi ($p < .05$). Konvansiyonel tedaviden sonra klinik indeks değerlerinde düşüş vardı ki, buda istatistiki açıdan anlamlı idi ($p < .001$). Dolayısıyla, bu bulgular puberta gingivitis patobiyojisinde $CD4^+$, $CD8^+$ lenfositlerinin önemli bir rol oynayabileceğini desteklemektedir.

SUMMARY

There is a balance, in health, between pathogen organisms and the host defense system; when there is an imbalance in favor of the virulence factors, disease may occur. Bacterial plaque that is colonized in the supragingival and subgingival region and its metabolic productions may become active in humoral or cellular immune systems. Although the humoral immune response basically includes antibody production against bacterial plaque, cellular immune response refers to a cell population exist in the gingival lesion. The aim of this study was to investigate the presence of the ratio of $CD4^+$, $CD8^+$ and $CD16^++56^+$ lymphocytes at the local level with the intention of determining immunoregulation mechanisms that are effective in patients with puberty gingivitis. In addition, it was to determine whether there was change in T-lymphocyte subsets in patients with pubertal gingivitis after the application of conventional treatment methods. The investigation was carried out on 40 adolescents subjects (20 subjects with pubertal gingivitis, 20 subjects with healthy). The biopsy samples were taken from the gingival tissues at the region of gingivitis. Then, $CD4^+$, $CD8^+$ and $CD16^++56^+$ lymphocytes are $CD4^+/CD8^+$ ratio values were determined using flow cytometry in the biopsy samples. At the same time, gingival index (Löe-Silness) and plaque index (Silness- Löe) scores were recorded to assess the periodontal status in subjects. To determine the differences between the clinical measurements and the laboratory results obtained before the treatment, after conventional treatment, we performed paired *t-test* and student *t test* . The $CD4^+$, $CD8^+$ and $CD16^++56^+$ lymphocyte values in the patients with pubertal gingivitis were found to be 23.50 ± 4.86 %, 13.81 ± 3.6 and 12.63 ± 2.78 %, respectively. The values are lower than the control group. The $CD4^+$ lymphocyte value increased to 27.50 ± 4.15 % conventional treatment. A similar findings was found for $CD8^+$ lymphocyte value. The $CD8^+$ lymphocyte value increased to 17.63 ± 2.42 % with conventional treatment. However, the $CD4^+/CD8^+$ ratio decreased after conventional treatment. This decrease was statistically significant ($p < .05$). After conventional treatment, there was decrease in clinical indexes, which was statistically significant ($p < .001$). Consequently, these findings suggested that $CD4^+$, $CD8^+$ lymphocytes could play a significant role in pubertal gingivitis pathobiology.

GİRİŞ VE AMAÇ

Gingivitis, gingival sulcusta veya ona yakın bölgelerde biriken bakteriler ve konağın savunma cevabı arasındaki dengenin konak aleyhinde bozulması ile ortaya çıkan lokal enfeksiyonel bir hastalıktır.¹ Kronik iltihaplı dişeti hastalıklarında doku yıkımının başlamasına ve ilerlemesine yol açan esas etyolojik faktör, plak mikroorganizmalarının birikmesi ve kök boyunca çoğalmasıdır. Diğer lokal ve sistemik etyolojik faktörler ya plak birikimini ya da gingival dokunun mikrobiyal ataklara verdikleri duyarlılığı artırır.²

Bakteriyal plak antijenleri ve ürünleriyle aktive olan lokal ve sistemik immunolojik mekanizmalar, bir yandan bakteriyal plağa karşı dişeti dokularını korurken, diğer yandan da iltihabi olay sırasında oluşan doku yıkımında aktif rol oynarlar.¹

Gingivitisin patogeneğinde, birbirini takip eden ve her birinin ayrı karakterde olduğu dört evre tanımlanır. Başlangıç lezyonu plak bakterilerinin normal gingivaya geçişi ile indüklenen akut bir iltihabi fazı içerir. Bunu erken lezyon takip eder. Erken lezyon T lenfositlerinin çoğunluğunu oluşturduğu bir lenfoid hücre infiltrasyonu ile karakterizedir. Az sayıda B hücrelerine de rastlanır. Bu safhadaki hücresel infiltrasyonun karakteri erken lezyonun patogeneğinde hücresel immun yanıtın rol oynadığını göstermektedir. Daha sonra klinik olarak kötü bir tablonun görüldüğü, histopatolojik olarak yoğun plazma hücresi infiltrasyonu ile karakterize olan “yerleşmiş lezyon” ortaya çıkar. İltihabi hücre infiltrasyonu içinde T hücreleri de mevcuttur. Yerleşmiş lezyon yıllarca sürebilir. Bu durum biyolojik başarılı bir konak savunma mekanizmasına örnek olarak gösterilebilir. Bazı vakalarda yerleşmiş lezyon “ilerlemiş lezyon” haline dönebilir. Bu takdirde yıkıcı immunopatolojik mekanizmalar aktive olmuştur. Yerleşmiş lezyondan ilerlemiş lezyona geçişe neden olan faktörler kesin olarak bilinmemektedir. Ancak spesifik bazı mikroorganizmalar ile konağa ait

immun cevap mekanizmalarının bu olayda etkin olabileceği düşünülmektedir.³

Hastalık patogenezindeki gelişmelerden anlaşılacağı gibi, dişeti hastalıklarında T/B oranı değişir. Bu değişiklik azalma yönünde olur. Bu orandaki düşüş T hücrelerinin azalmasından değil, B hücrelerindeki artıştan kaynaklanır. B hücre sayısı hastalık halinde çarpıcı olarak artar.⁴ Dolayısıyla dişeti hastalıkları tedavisinin amacı B hücre lezyonunu T hücre lezyonuna çevirmek olabilir.⁵ Şüphesiz klinik pratikte, intragingival B-T lenfositlerin değişimini izlemek imkansızdır.

Dişeti iltihabında, lokal antikor sentezinin kontrolünde öncelikle T lenfositlerin etkili olduğu düşünülmektedir. İmmün yanıtın karakterini belirleyen yardımcı T-lenfositlerin / Baskılayıcı T-lenfositlere oranı konusunda yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir.⁶⁻¹¹

Bu nedenle araştırmamızda, puberta gingivitisli hastalara etki eden immünoregülasyon mekanizmalarının belirlenmesi amacıyla lokal düzeyde CD4⁺, CD8⁺ ve CD16⁺+56⁺ lenfosit oranlarının tespitine çalışıldı. İlave olarak konvansiyonel tedavi uygulamalarından sonra puberta gingivitisli hastalarda T-lenfosit alt gruplarında değişikliğin olup olmadığı incelendi.

GENEL BİLGİLER

1.1. Gingivitis

Dişeti, çenelerin alveoler kısmını örten, dişleri kolelerinden saran, keratinize çiğneyici mukoza dokusudur. Bu doku, dişeti papili veya interdental papil, serbest dişeti ve yapışık dişeti olmak üzere üç ana kısımdan ibarettir. Dişeti papili, dişler arası bölgede kontak noktası altında kalan kısmı doldurur. İki papilla bir interdental col'dan oluşur, interdental papil serbest dişeti ile devam eder. Serbest dişeti, dişleri yaka gibi saran dişetin dişler üzerinde sonlandığı bölge olarak tarif edilir ve bu yapıyı yapışık dişeti tamamlar. Yapışık dişeti oldukça sert ve alttaki kemiğin periostuna sıkıca bağlıdır ve daha gevşek olan hareketli alveoler mukozadan mukogingival oluk adı verilen belirgin bir hat ile ayrılır. Sağlıklı dişeti pembe rengi ve sıkı yoğunluğu ile karakterizedir. Üzerinde portakal kabuğu görüntüsünü andıran, pütürlü bir yapı (stippling) mevcuttur.^{1,12}

Dişetini oluşturan yapılar iltihaplanmadığı müddetçe asla kanamaz. Eğer dişeti dokusu iltihaplanırsa, gingivitis adı verilen diş eti hastalığı meydana gelir.¹³ Gingivitis; klinik açıdan kemik kaybı olmaksızın eritem, ödem, hiperplazi, gingival cep oluşumu ile karakterizedir ve dişler üzerinde oluşan dental plağa karşı direk bir immun cevaptır.^{1,13}

1.2. Dişeti Hastalıklarının Sınıflandırılması

Dişeti hastalıkları neden-sonuç ilişkisine göre, farklı otörlerce değişik şekillerde yorumlanmıştır.¹⁴⁻¹⁸ Son olarak da Armitage¹⁹ dişeti hastalıkları nedenlerine göre sınıflandırmıştır. Buna göre;

A- Dental plağa bağlı gingival hastalıklar**1-Yalnızca dental plağa bağlı gingivitis****a-Diğer lokal yardımcı faktörler olmaksızın****b-Lokal yardımcı faktörlerle birlikte****2-Sistemik faktörler tarafından modifiye olan gingival hastalıklar****a-Endokrin sistem ile alakalı****i-Puberta gingivitis****ii-Menstrual dönemde görülen gingivitis****iii-Gebelik****√ Gingivitis****√ Pyojenik granuloma****iv-Diabetes Mellitus'a bağlı gingivitis****b-Kan hastalıkları ile alakalı****i- Lösemi****ii-Diğerleri****3-İlaçlara bağlı gingival hastalıklar****a-İlaç etkileşimli gingival hastalıklar****i- İlaça bağlı gingival büyüme****ii-İlaça bağlı gingivitis****√ Oral kontraseptif kullanımına bağlı gingivitis****√ Diğer****4-Yetersiz beslenmeye bağlı gingival hastalıklar****a-Askorbikasit yetmezliği gingivitisi****b-Diğer**

B-Plağa bağlı olmayan gingival hastalıklar**1-Spesifik bakterial orjinli Gingival hastalıklar**

- a-Neisseria gonorrhea lezyonları**
- b-Treponema pallidum lezyonları**
- c-Streptokok lezyonları**
- d-Diğer**

2-Viral orjinli gingival hastalıklar

- a-Herpes virus infeksiyonları**
 - i- Primary herpetik gingivostomatitis**
 - ii- Recurrent oral herpes**
 - iii-Varicella-zoster infeksiyonları**
- b-Diğerleri**

3-Fungal orjinli gingival hastalıklar

- a-Candida infeksiyonları**
 - √ Generalize gingival candidosis**
- b-Linear gingival eritema**
- c-Histoplazmosis**
- d-Diğer**

4-Genetik orjinli gingival lezyonlar

- a-Herediter gingival fibromatozis**
- b-Diğer**

5-Sistemik durumların gingival görüntümleri**a-Mukokutanöz hastalıklar**

- i- Liken Planus**
- ii- Pemfigoid**
- iii-Pemfigus vulgaris**
- iv-Eritema multiforma**
- v- Lupus eritematösis**
- vi-İlaç etkileşimleri**
- vii-Diğer**

b-Allerjik reaksiyonlar**i-Dental restoratif materyaller**

- √ Civa
- √ Nikel
- √ Akrilik
- √ Diğer

ii-Aşağıdakilerle ilgili reaksiyonlar

- √ Diş macunu
- √ Ağız gargaraları
- √ Katkılı sakızlar
- √ Yiyecekler ve katkıları

iii-Diğerleri

6-Travmatik Lezyonlar(yapay, iatrojenik, kaza)

a-Kimyasal yara

b-Fiziksel yara

c-Termal yara

7-Yabancı vücut reaksiyonları

8-Hiçbir nedene bağlanamayan

Bu sınıflandırma dikkatle incelendiğinde bakteri plağının dişeti hastalıklarında önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Keza deneysel klinik çalışmalar oral hijyen işlemlerine ara verildikten sonra, temiz diş yüzeyinde oldukça hızlı bir şekilde kolonize olan mikroorganizmaların birkaç gün içerisinde gingivitisin mikroskobik ve klinik bulgularını ortaya çıkardığını göstermiştir.^{20,21} Deneysel klinik çalışmaları destekleyen diğer çalışmalarda da gingivitisin plak retansiyonu ile yakın ilişkisi gösterilmiş, oral hijyen uygulamasının yetersiz olduğu lokal alanlarda, taşkın dolgu ve kron kenarları gibi spesifik alanlarda gingivitisin daha yaygın olarak meydana geldiği vurgulanmıştır.¹² Ayrıca bakteri plağının kalitatif ve kantitatif gelişimi için, dişeti oluşu bölgesi de oldukça elverişli bir bölge olarak tanımlanmıştır.

Klinik olarak sağlıklı dişeti, mikroskobik kesitlerde nadir görülen, iltihabi infiltratın çok az veya hiç bulunmadığı histopatolojik açıdan sağlıklı dişetinden farklıdır. Klinik görüntü olarak sağlıklı kabul ettiğimiz bireylerin dişetlerinin histolojik kesitlerinde dahi mikroorganizma ve predominant olarak nötrofil, polimorfonükleer lökositlerden oluşan bir lokosit infiltratı tespit edilmiştir. Bu lökositler primer olarak dişeti oluşunda ve doku içerisine veya doku dışına göç olduktan sonra bakteriyi fagosit ederler. Nötrofiller ise bakteri tarafından salınan bazı moleküller vasıtasıyla dişeti cebinde gingival sıvıda toplanırlar ki bunlarda kemotaktif peptitler olarak isimlendirilirler. Ayrıca bakteri epitel hücrelerine zarar verir, bu da epitel hücrelerden

stokin adı verilen moleküller salınmasına neden olur, bu stokinler ise olukta daha yüksek oranda lökositlerin birikmesine sebep olurlar. Oluk içerisinde nötrofiller fagositoz yapabilirler ve bu sayede cepten bu bakterileri temizlerler. Eğer nötrofil bakteri ile aşırı yüklenirse, degranülete olur veya parçalanır. Bu da nötrofillerden salınan toksik enzimlerden dolayı dokuda hasar oluşmasına neden olur. Bu yüzden nötrofiller hem yardımcı hem de potansiyel zararlı olarak gözlenebilirler. Nötrofil defansı bazı örneklerde iyi etki gösterebilir, bakterial yığılını azaltabilir ve gingivitis lezyonunu önlemede önemli bir etken olarak düşünülebilir. Bununla birlikte mikrobial plakta aşırı bir artış varsa, nötrofiller ve epitel hücre bariyeri infeksiyonu önlemede yeterli olmayabilir. Böyle örneklerde dişeti dokusu çok iltihaplı duruma gelir ve klinik açıdan gingivitis olarak görülür.¹

Çoğu bireyde 10-20 günlük plak birikiminden sonra gingivitisin klinik belirtileri gelişir. Gingivitis dişetinde kızamık, şişlik, sondalamada kanama eğilimi ile ortaya çıkar.³ Bu dönemde, eğer etkili plak kontrol yöntemleri ile plak uzaklaştırılırsa gingival enflamasyon geri dönebilir. Gingivitisin erken safhalarında klinik değişiklikler oldukça anlamlıdır. Bununla birlikte dokunun mikroskopik muayenesi belirli histopatolojik değişiklikler gösterir. Bu değişikliklerin en önemlileri kan damar paketinde olan değişikliklerdir. Damarlanma artar ve kandan gelen serum transuda ve proteinler dişetinde şişliğe neden olur. Doku içerisine enflamatuvar hücre veya lökosit akışı vardır. Enflamatuvar hücreler, bir yandan bakteriyi yutan ve sindiren fagositik hücrelerden makrofaj ve nötrofilleri, diğer taraftan mikroorganizmalara karşı immün yanıtın temelini oluşturan lenfositleri içerir.¹

Periodontal hastalıklarda patojenik süreç büyük ölçüde mikrobial doku yıkımı artışına karşı konak cevabının sonucudur. Bu yıkım bakteri tarafından başlatılır, fakat konak hücreler tarafından artırılır. Dolayısıyla doku yıkımının konak cevabının bir sonucu olduğunu düşünmek daha doğru bir yaklaşımdır.

1.3. Histopatolojik Değişiklikler

Puberta gingivitisindeki histopatolojik özelliklerin diğer kronik gingivitislerdeki histopatolojik yapı ile aynı olduğu vurgulanmıştır.²² Dişeti hastalığı, Page ve Schroeder³ tarafından, başlangıç, erken ve yerleşmiş gingival lezyonlar ile ilerlemiş periodontal lezyon olmak üzere dört histopatolojik safhada tanımlanmıştır.

Son yıllarda Kinane ve Lindhe²³ bu sınıflandırmaya ilave bilgiler katmışlardır. Bu yaklaşıma göre, sağlıklı dişeti; histopatolojik açıdan çok az veya enflamatuvar infiltratın hiç bulunmadığı “süper sağlık” veya “Pristine” durumu ile, klinik açıdan sağlıklı görünen, fakat histopatolojik açıdan enflamatuvar infiltrat özelliği bulunan “klinik olarak sağlıklı” gingival durum olmak üzere iki tip de ele alınmıştır. Pristine gingiva ancak denetlenen günlük bakım ile desteklenen profesyonel bakımın olduğu durumlarda görülebilir. Sağlıklı dişeti derken çoğunlukla klinik açıdan sağlıklı durumdan bahsedilmiş olunur.

Page Schroeder³ tarafından ileri sürülen modeli temel alan, Kinane ve Lindhe²³ dişeti hastalıklarının geniş bir histopatolojik tanımını yapmışlardır (Tablo 1). Bu tanıma göre başlangıç ve erken lezyon, gingivitisin erken safhasının histopatolojik değişikliklerini yansıtırken, yerleşmiş lezyon kronik gingivitisin histopatolojisini ortaya koyar. Periodontitisin histopatolojik özellikleri ve gingivitisten periodontitise ilerlemeyi ise ilerlemiş lezyon tanımlamaktadır.

Tablo 1.Kinane & Lindhe'nin Sınıflandırması

Klinik Durum	Histopatolojik durum
Pristine Gingiva	Histolojik bakımdan kusursuzluk (Mükemmellik)
Normal Sağlıklı Gingiva	Page & Schoeder'in başlangıç lezyonu
Erken Gingivitis	Page & Schoeder'in erken lezyonu
Yerleşmiş Gingivitis	Kemik kaybı ve apikal epitel migrasyonu olmaksızın yerleşmiş lezyon (Lökosit infiltratının % 10 ile % 30'u arasında plazma hücresi yoğunluğu)
Periodontitis	Mine sement sınırından apikal epitel migrasyonu ve kemik kaybı bulunan yerleşmiş lezyon (Plazma hücre yoğunluğu %50'den fazla)

Başlangıç lezyonu plak birikiminin dördüncü gününden itibaren ortaya çıkar. Lezyon klinik bulgu vermez ve plak birikimine karşı akut bir enflamatuvar cevap ile karakterizedir.^{20,24,25} Başlangıç lezyonu, gingival sulkus bölgesinde, bağlantı epitelinin bir kısmı ile bağ dokusunun en koronel parçasını içerisine alan etkilenmiş doku ile lokalizedir. Histopatolojik incelemede dentogingival plexusta arter, kapiller ve venlerin dilatasyonu belirgin olarak görülmektedir. Mikrovasküler permeabilitede bir artış ortaya çıkar. Bunun sonucu olarak artmış bir kan akım hızı ve artmış bir dişeti oluğu akış hızı görülür. Bağlantı epitelinde ve gingival sulkusta, bağlantı ve sulkular epitelyumun altındaki, vasküler plaksustan gelen nötrofilerin migrasyonu major özellikleri oluştururlar. Epitel altındaki gingival bağ dokusunun % 5-10' unda enflamatuvar infiltrat bulunmaktadır ve kollojen kaybı enflamatuvar infiltrat bölgesine lokalizedir. Bu infiltrat alanı sıvı, serum proteinleri ve enflamatuvar hücrelerden oluşmaktadır.^{24,26}

Plak birikiminden yaklaşık 7 gün sonra mononükleer lokositlerin inflamatuvar bir infiltratı

başlangıç lezyonu alanında, bu lezyonu erken lezyona dönüştürecek tarzda gelişir.^{25,27-30} Bağlantı epitelinin altındaki damarlar dilate kalır, fakat evvelce inaktif olan, kapiller yataklarının açılmasından dolayı, damar sayısında artış gözlenir. Plazma hücrelerinin seyrek bulunduğu lezyonun periferinde lenfosit ve makrofajlar predominattır. Lezyon gingival bağ dokusunun yaklaşık %15'inde infiltrate olmuş durumdadır, infiltrate olmuş alanda da %60-70 oranında kollojen yıkımı bulunur. İnfiltrasyon hücreleri kollojen yıkımı ile oluşan yüzeyde çok yer tutmaktadır. Enflamatuvar değişiklikler klinik olarak ödem ve eritem görünümünü sunarlar ve gözle görülebilir.²⁰

Plak birikiminden 2-3 hafta sonra erken lezyon yavaş yavaş yerleşmiş lezyona döner. Klinik olarak bu lezyonda dişeti daha ödematoz ve şiştir. Gingival cebin lamina propriasında makrofaj ve lenfositler farkedilebilirler. Dikkati çeker ölçüde bağlantı ve sulkular epitelyal nötrofil infiltrasyonu mevcuttur.^{5,30-33} Bağlantı epiteli bağ dokusunun daha derinlerine doğru çoğalır ve göç edebilir. Bunun sonucunda gingival sulkus derinleşir ve bağlantı epitelinin koronel parçası cep epiteline döndürülür. Cep epiteli diş yüzeyine bağlı değildir ve sonuçta gingival oluk ve cep içerisinde epiteli baştan başa geçen nötrofillerin predominant olduğu şiddetli bir lokosit infiltrasyonu mevcuttur.³⁰ Page ve Schroeder'in³ hayvanlarda tanımladığı yerleşmiş lezyon da ise plazma hücrelerinin predominanlığı söz konusudur. Bu farklılığın belirlenmesi Kinane ve Lindhe²³ çalışmasını insanlar için daha geçerli kılmıştır.

İlerlemiş lezyon periodontal cep formasyonu, epitelde ülserasyon ve supurasyon, alveoler kemik ve periodontal ligament yıkımı, dişte mobilité, migrasyon ve sonuçta diş kaybı ile karakterizedir. İlerlemiş lezyon yerleşmiş gingival lezyondaki aynı özellikleri içerir. Ayrıca diş yüzeyine bağlanan bağ dokusunda yıkım, epitelyal atışmada apikale göç daha da artmış görülmüştür.^{31,32,34,35}

Kemik yıkımı kan damarları etrafında interdental septumun tepe noktası boyunca başlar. Epitel kök yüzeyi boyunca apikale doğru artar. Bu da derin bağ dokusu içerisindeki cep epitelinin parmak şeklindeki çıkıntılarının uzamasına neden olur. Bu çıkıntılar devam etmeyen bazal tabakalı düzensiz sırtlar olarak görülür ve dişe bağlı değildirler.³⁶ Gingivitisten periodontitise ilerleme T hücre baskınlığından B hücre baskınlığına değişim ile belirlenir. Bu ilk kez Seymour ve ark.³⁵ tarafından ortaya konulmuştur. Bu görüşün aksini yani B hücre infiltrasyonunun puberta gingivitisinde temelde stabil ve non-progresiv lezyonlarda birlikte olduğunu ileri süren araştırmacılar vardır.^{37,38}

Tüm bunlardan görüleceği üzere, çocukluk döneminde meydana gelen gingivitis, erişkin dönemde oluşan gingivitislerden daha farklı özelliklere sahip olabilir. Yapılan çalışmalarda, eşit miktarda plak varlığında, gingivitisin şiddeti çocuklarda erişkinlerdekinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir.^{39,40} Çocuklarda kronik iltihaplı gingiva, erken lezyon karakteristiklerine sahipken, aynı durum erişkinlerde periodontal lezyon olarak yansır.^{41,42}

Sutcliffe⁴³ 1972 de 11-17 yaşlarında 127 çocukta yaptığı longitudinal bir araştırmada küçük lokal irritanlara karşı dahi abartılı doku cevabı sonucu puberta gingivitisinin oluştuğunu bildirmiştir.

1.4. Puberta ve puberta gingivitis

Puberta kişinin üreme kabiliyeti ile sonuçlanan kompleks seksüel olgunlaşma safhasıdır. Puberta basit süreç değil, daha ziyade fiziksel görünümde değişikliklerin ve yetişkin davranışlarının olduğu endokrinolojik olaylar safhasıdır. Bu safhada vücut gelişir, genital olgunlaşma tamamlanır ve üreme kapasitesi kazanılır.⁴⁴

Puberta yaşı bireylere ve cinsiyete göre değişim göstermektedir. Pubertanın başlangıç yaşı ortalamanın her iki yönünde 2 yıllık değişim ile kızlarda 10,5 yaş, erkeklerde 11,5 yaşır. Puberta dönemi 4-5 yıl devam eden bir süreçtir.⁴⁵ Puberta yaşı üzerine birçok faktör rol

oynamaktadır. En önemli faktörlerden biri de genetikdir. Diğerleri dış faktörlerdir ki, bunlar arasında, fiziksel stresler, sosyo-ekonomik durumlar, spor, beslenme, coğrafik enlem en çok üzerinde durulan faktörlerdir. Birinci yüzyıldan bu yana, adolesen popülasyonu üzerindeki çalışmalar pubertanın gitgide daha erken yaşlarda başladığını ortaya koymakla birlikte, sosyo-ekonomik durumu yüksek seviyede olan ülkelerde puberta başlangıcı stabilize olarak görülmektedir. Türkiye’de puberta dönemini belirlemeye yönelik çok az çalışma vardır. Bu çalışmalarda puberta başlangıç ve bitiş zamanlarının genel ortalamalara uymadığı ve geç olduğu ortaya konulmuştur.^{46,47}

Puberta gingivitis, puberta döneminde plağa bağımlı olmak üzere ortaya çıkan ve endokrinolojik değişimlerin, hastalığın gelişmesi ve seyrinde önemli rol oynadıkları kronik bir gingivitis şeklidir.

Hormonal açıdan bakıldığında ise puberta, sex hormonlarının önemli derecede artış ile karakterize bir dönemdir. Kızlarda, overlerde üretilen östrojen (E_2), erkekler testisler tarafından üretilen, testesteron en önemlileridir. Ayrıca her iki cinsiyette de böbrek üstü bezlerinden salgılanan androjen hormonları seksüel gelişmede önem arzederler. Tüm bu hormonlarla ilişkili olarak, genital olgunlaşma tamamlanır ve üreme kapasitesi kazanılır. Puberta döneminde meydana gelen bu değişimler ışığında Tanner⁴⁸, her iki sexde pubertal maturasyon parametreleri olarak tanımlanan testikuler volüm ve göğüs büyümesi ile ilgili beş ayrı safha rapor etmiştir.

Daha sonra yapılan çalışmalarda, gingival enflamasyon derecesi ve Tanner skorları arasındaki ilişki, puberta ile beraber görülen dişeti iltihabi durumunda, hormonal etki varlığını vurgulamıştır.^{49,50} Ayrıca seks hormonlarının, endotelial geçirirliği ve vasküler permeabiliteyi artırdığı, inflame dokuya lökosit göçünü ve granülasyon dokusu oluşumunu etkilediği ve subgingival flora kompozisyonunda değişiklikler oluşturduğu rapor edilmiştir.³¹

1.5. Puberta gingivitisin epidemiyolojisi

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, gingivitis gelişimi ve yaş arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir.^{39,40,51,52} Süt dişlerindeki iltihabi doku alanlarının miktarı ile yaş arasında pozitif ilişki tespit edilmiş, ancak süt dişlenmesi dönemindeki iltihaplı dişeti doku miktarı ile plak miktarı arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Hatta bazı çalışmalarda, okul öncesi çocuklarda, oral hijyen kötü olduğu durumlarda bile, gingivitis belirtileri gözlenmemiştir.^{39,40} Yaşla ilişkili olarak gingivitis oluşma eğilimi, plak birikimi miktarındaki artışlarla ilişkili olabileceğinin düşündürmesine rağmen, farklı yaşlarda diğer faktörlerin de göz ardı edilmemesi gerekliliği bildirilmiştir.^{39,40,53,54} Şöyle ki, plak seviyelerinde bir artış olmaksızın puberta dönemindeki her iki seksteki bireylerde gingival iltihapta bir artışın olması, bize plak haricinde farklı bazı faktörleri (immunité, hormonlar gibi) çağrıştırmalıdır.³⁸

Genel olarak gingivitisin prevalansı, insidansı ve şiddeti puberteye kadar artarak devam ettiği anlaşılmaktadır. Araştırma sonuçlarının çoğu yaşla plak, diştaşı, gingival indeks değerlerinin arttığını gösterir. Rapor edilen bilgi doğrultusunda dişeti dokusundaki patolojik değişikliklerin ve gingivitisin ilk olarak 3-3,5 yaşları arasında oluştuğu ve 3 yaşındaki bireylerin % 36' sında 1 veya daha fazla gingival alanda gingivitis varlığı bildirilmiştir.⁵⁴

Okul öncesi dönemde, düşük bir gingivitis prevalansının, pubertal döneme rastgelen 9-14 yaş civarında artarak pik yaptığı pek çok yayında rapor edilmiştir.^{43,50,55} Başka çalışmalarda da yaşa göre gingival indeksin sunduğu eğride, birincisi miks dişlenme, ikincisi puberta dönemi olmak üzere iki önemli pik bildirilmiştir.^{56,57} Puberta döneminde gözlenen gingival indeks pikinin, kızlarda, erkeklerinkinden daha erken dönemde gözlemlendiği rapor edilmiş ve nedeni puberta döneminin kızlarda daha erken yaşlarda başlaması gösterilmiştir.⁴³ Ancak, 9-10 yaşlarından sonra erkeklerin gingival indeks skorlarının, kızlarınkinden daha yüksek olduğu

tesbit edilmiştir.^{43,55}

Yapılan araştırmaların sonuçları ve bu sonuçlar arasındaki mukayese, çelişkilidir. Çalışmalar arasında gözlenen büyük farklar kayıtların tutulmasının zorluğundan dolayı fizyolojik ve patolojik fenomenin gerçek değişimlerinin hepsini şüphesiz ortaya koyamamaktan kaynaklanmakta olduğu düşünülmektedir. Bugün için kabul edilen görüşün, gingivitisin maksimum prevelansının gözlemlendiği yaşın dağılımının pubertanın ortaya çıktığı yaş periyodu ile aynı olduğu şeklindedir.

Puberta gingivitisin insidans ve şiddeti üzerine puberta dönemin etkileri yanısıra, ağız solunumu , dolgulu dişler ve diş erupsiyonu gibi değişik faktörler de rol oynayabilir.⁵⁵ Bununla birlikte, her iki sexte puberta esnasında steroid hormon seviyelerinde ki artışın dişetin iltihabi durumu üzerine geçici bir etkisi olduğu rapor edilmiştir.⁵

1.5.1.Puberta gingivitis atağının başlangıcı

Plağa bağımlı, sistemik faktörler tarafından modifiye olan ve endokrin sistem ile alakalı puberta gingivitisi, plağa bağımlı diğer gingivitislerden farklıdır. Şöyle ki, puberta dönemi esnasında nisbeten küçük miktardaki plak, gingival enflamasyon işaretlerini göstermeye yetmektedir. Bu bağlamda puberta gingivitisini değerlendirirken puberta döneminin özelliklerini de dikkate almak daha doğru yaklaşım olacaktır.

Eğer lokal faktörler daima mevcutsa pubertadan sonra bile gingivitis kendiliğinden ortadan kalkmaz. Hafif bir azalma bazen gözlenebilir, fakat kronik alevlenme devamlıdır.¹³ Lokal iritasyonlar ortadan kaldırıldıktan sonra hastalık doğru bir şekilde tedavi edilirse, dişeti dokusu eski sağlığına kavuşur. Glickman' a göre basit kronik gingival hipertrofidan farklı olan puberta dönemindeki gingival hipertrofinin şiddeti, derecesi ve eğilimi nispeten küçük lokal iritasyonların oranıyla daha büyük tarzda ortaya çıktığının altı çizilmelidir.⁵⁸ Puberta esnasında gingival artışın derecesi çocuklarda (8-10 yaş) ve genç erişkinlerde bazı lokal iritanların sebep

olduğu gingival artıştan belirli bir şekilde daha yüksektir.

1.5.2 Cinsiyet

Puberta gingivitisin prevalansının erkeklere nazaran kızlarda daha yüksek olduğu bildirilmesine rağmen ⁵⁹ bazı kaynaklarda böyle bir farkın olmadığı rapor edilmiştir.⁵⁸ Mevcut farklılığın oral hijyen işlemlerine bağlı olduğu vurgulanmıştır.

1.5.3. Puberta gingivitisin özellikleri

Puberta gingivitis diğ er gingivitislerden ayıran yada birleştiren belirli özellikler mevcuttur.⁶⁰

Bunlar;

a-Dişeti kenarında plak mevcudiyeti,

b-Dişetinde belirgin bir iltihabi cevap,

c-Gingivitisin maksimum prevalansının gözlemlendiği yaş dağılımının, Tanner 2 veya daha büyük değerler ile uyumluluğu,

d-Dişetinde mavimtrak kırmızı bir renk değişikliği,

e-Dişetinin boyutundaki muhtemel değişikliğ e bağlı dişeti konturda değişiklik,

(Puberta gingivitisin tipik şekli papiller şişlik ile karakterizedir. Sıklıkta ahududu görünümülü tabloya hakimdir. İltihaplı papillalar, şiş, bulboz, eritematoz ve ödematozudur. Düz parlak şişkin görünüm sergiler.)

f-Artan dişeti oluğu sıvısı,

g-Kanamaya artan meyil,

h-Ataşman kaybının bulunmaması,

ı-Kemik kaybının bulunmaması,

j-Pubertayı takiben iyileşmenin olmasıdır.

1.5.4. Puberta gingivitisin lokalizasyonu

Gingivitis az veya çok yayımlı olmakla birlikte genelde lokalizedir. Daha önceleri küçük alanlar halindedir ve daha sonra yayılabilir. Lokal iritanların mevcut olduğu yerlerde, özellikle interdental bölgelerde daha yaygındır. Bu durum interdental papilayı örten marjinal dişetiyle alakalıdır.¹³

Gingivitis, ağızda farklı bölgelerde farklı oranlarda görülebilir. En fazla sıklıkla, ağız temizliğin daha güç yapıldığı bölgelerde görülür.⁵⁸ Ayrıca, ağız solunumu, diştaşı ve plağın fazlaca tutunduğu bölgeler, lingual disfonksiyon, gingivitiyi etkileyen en önemli dış faktörlerdendir.⁵⁸

Puberta döneminde hormonal değişimler ise iç faktör olarak önemini korumaktadır. Hormonal artışın puberta döneminde ortaya çıkan gingivitisin şiddetini artırdığı düşünülmektedir.

2.1. Hormonlar

Hormonlar sinyaller vasıtasıyla bir organizmanın biyokimyasını kontrol eden kimyasal maddelerdir. Her bir hormonun bir organizmanın belirli bir noktasına etki eden çok kesin bir etkisi vardır. Bu nedenle bütün hormonlar değişik glandlarda bulunan özelleşmiş spesifik hücrelerden sentez edilirler(örn: testis veya ovaryum vb.) , buradan da vücut sıvıları içerisine salınırlar(örn: kan , lenf vb.).⁶¹ Hormonlar büyüme, immun cevap, açlık, stres ve seksüel istek gibi birçok farklı etkiden sorumludurlar.⁶² Hormonlar kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılırlar.⁶¹ Bunun anlamı, belli bir gruptaki hormonların farklı etkilere sahip olabilecekleridir, fakat çalışma mekanizmaları benzerdir. Tıbbi açıdan ise fonksiyonlarına göre hormonları gruplandırmak muhtemelen daha mantıklıdır.

Puberta kişinin sekstüel bir olgunlaşma safhası olduğuna göre, puberta dönemine ait bir hastalığı ele alırken, seks ile ilgili olan hormonları da spesifik bir grup olarak ele almanın daha doğru bir yaklaşım olacağı kanısındayız.

2.1.1. Testesteron

Testesteron testisin temel hormonudur ve leyding hücreleri tarafından kolesterol'den sentez edilir.⁶³ Testesteron salınımı putiutar bez tarafından salınan LH'ın kontrolü altındadır.⁶³ LH salınımı negatif Feedback yoluyla kanda testesteronun artan seviyesine karşın azalır. Testesteron erkek sekonder seks karakterlerini geliştirir ve idame ettirir. Anaboliktir ve büyütmeyi hızlandırır ve sperm fonksiyonunda rol oynar. Keza agresif davranışlarada neden olur ve lipidoyu artırır. Kafa derisinde saçlanma azalırken vücut kılları androjenler vasıtasıyla artar.

2.1.2. Östrojen

Ovaryum kadınlarda sekonder seks karakterlerinin gelişmesine neden olan ve üreme fonksiyonlarını geliştirip idame ettiren steroid hormonları üretir.⁶³ Östrojen bilhassa ovaryum folikülü, Korpus luteum ve plesentanın theca interna hücreleri ve granüloza hücreleri tarafından salınır.⁶³ Thecal hücrelerinden granüloza hücrelerine geçen haberci androstenedin'den ve kolesterolden östrojen üretimine theca interna veya granüloza hücreleri üzerindeki reseptörlere anterior pituitar bezden salgılanan LH bağlanır. Progesteron çoğunlukla korpus luteum ve plesentadan salgılanır, fakat bir kısmı gelişen folikül tarafından yapılır. Progesteron ve LH sekresyonu arasında negatif feedback olayı vardır ve yüksek dozları ovulasyonu engelleyebilir.

2.1.3. Puberta da hormonlar ve mikroorganizmalar arası ilişki

Seks hormonlarındaki artış dişetlerindeki küçük kan damarlarının genişlemesini başlatır ki bu da kızarıklıkta, gingival kanamada ve şişlikte artış olarak ortaya çıkar.^{64,65} Ayrıca sex hormonlarının endotelial geçirirliği ve vasküler permeabilityi artırdığı, inflame dokuya

lökosit göçünü etkilediği, granülasyon dokusu oluşumunu etkilediği ve subgingival flora kompozisyonunda kolay değişiklikler oluşturduğu rapor edilmiştir.⁵² Bu çalışmalarda; Gr (-) anareobların total koloni oluşturan miktarları arasındaki oranın prepubertal dönemden, pubertal ve postpubertal döneme doğru bir artış gösterdiği, menarş yaşındaki bayanlarda siyah pigmentli bakterilerin koloni oluşturma miktarı (CFU) arttığı, puberta döneminde *B. intermedius* koloni oluşturma yüzdesinin prepuberta ve postpubertadan daha fazla olduğu, prepubertadan pubertaya doğru siyah pigmentli bakterilerin total CFU miktarında artış gösterdiği, *Provatella nigrescens* ve *Provatella intermedianın* koloni oluşturma yüzdesinin artışları kanıtlanmıştır.⁶⁶ Pubertaya doğru veya puberta döneminde periodontal patojenlerin serum antikor seviyeleri ve CFU artışı arasındaki ilişki olduğu görüşüne rağmen, puberta sonrası siyah pigmentli bakterilerin seviyelerinde birbirine ters düşen araştırmalar da vardır.⁵²

Artan sex hormonlarının mevcudiyeti dişeti oluşu sırasında dental plağın mikrobial yapısı üzerinde rol oynayabilir. Dişeti dokusu için patolojik olan bakterilerin serum antikor titrelerindeki puperta ile ilgili değişiklikler bize bazı bilgileri aktarabilir (örneğin, puberta gingivitis'i ile ilişkili olarak *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* ve *Porphyromonas Gingivalis*'e karşı Ig G seviyesinde artış gibi). *Provetella nigrescens* ve *Provetella intermedia* serum antikor seviyeleri ile kızlarda östrojen ve progesteron, erkeklerde testosteron serum seviyeleri arasında bir ilişkiyi ortaya koymaktadır.⁶⁶ Primer dentisyonda inflamatuvar lezyonlar gingival epitel boyunca bir doku bölümünde görülürken, inflamatuvar hücre infiltratı sıklıkla daimi dişlerin serbest dişetinin koronal bölümünde yerleşir,^{67,68} Ek olarak süt dişi gingivasının bağlantı epiteli daimi bir dişin bağlantı epiteliyle daha kalın bulunmuştur. Ve daha kalın bağlantı epiteli bakteriyel toksinlerin daha alt yapılara permeabilitesini azaltabilir.⁶⁷

Puberta döneminde gingival reaksiyonlar için etiyolojik faktör olarak puberta ve diş erüpsiyonu sorumlu tutulduğu kadar ağızdan solunum ve dental plak aktümlasyonu da birinci

dereceden sorumludur.

Gingivitis ve periodontitis insidansı prepubertal dönemde oldukça düşük seviyededir.^{39,40,43} Puberta döneminde, östrojen ve progesteron seviyeleri artar. Östrojen seviyelerinin artması ile oral florada bazı bakterilerin prevelansıda artar. Östrojen seviyelerinin arttığı anda proliferasyona eğilimli olan porphyromonas gingivalis ve diğer anaeroblar olaya karışırlar. Sex hormonlarının varlığında konak cevabı değişmiş olarak ortaya çıkar, ki buda hormonların immun sistemi direk olarak etkilediği fikrini destekler.^{44,65}

3.1.İmmunoloji

İnsanlarda B ve T lenfositlerin periodontal hastalıkların oluşmasında önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar mevcuttur.^{69,70} Bu çalışmalarda periodontal hastalıklarda lenfosit subpopulasyonlarının fenotipik özelliklerinin, periodontal hastalıkların nispeten azalan T hücre mevcudiyeti ve artan B hücre lezyonu ile alakalı olabileceğini destekler.

Çocuklarda lenfositlerin çoğunluğu (% 70) T hücresidir ve yalnızca lenfositlerin % 10-12'si kadar B lenfositlerdir.^{71,72} Keza gingival dokulardan alınan gingival hücrelerin % 53' ü T lenfosit olduğu için, gingivitiste T hücreleri predominant olarak kabul edilir (B lenfositler % 33' tür).^{73,74}

3.1.1.Periodontal Hastalıklardaki T Lenfositler ve Alt Grupları

Farklı periodontal lezyonlara infiltre olan inflamasyonun hücresel kompozisyonu hakkındaki bilgiler immün sistemin hangi kolunun yerel hastalık stüresince etkili bir savunma yaptığını ve yıkıcılık gösteren geniş ve ilerlemiş lezyonlarda durumun değişiklik gösterebildiğini bildirmektedir. Günümüzde B lenfosit, Plazma hücreleri ve T lenfositlerin reaksiyonlara katılımları hakkında tartışmalar devam etmektedir.

3.1.2. Lenfositler

Lenfositler, primer veya merkez lenfoid organlarda yapıldıktan sonra, bazıları kan sirkülasyonu yoluyla dalak, lenf düğümleri tonsiller ve mukoza altı lenfoid dokular gibi sekonder lenfoid dokulara göç ederler. Erişkin bir insanda, ortalama olarak 10^{12} lenfoid hücre ve toplam vücut ağırlığının % 2'si kadar da lenfoid doku bulunmaktadır. Sirkülasyonda bulunan kan hücreleri içindeki toplam lökositlerin % 20'si lenfositlerdir. Lenfositler, 8-12 μ çapında, sitoplazması dar hücreler olup günde ortalama 65 milyon kadar oluşmaktadır. Uyarılan lenfositler blast şekillerine döndürülür. Blast şekilleri 15-30 mikron çapında, sitoplazmaları daha geniş, ribozom ve golgi cihazı gibi organelleri olan hücrelerdir. Lenfosit topluluğunda küçük, orta ve büyük lenfositler bulunmaktadır. Kemik iliğindeki lenfoblastların, timus kontrolünde farklılaşarak timus korteks ve medullasında T tipi ve fabrisiusa eşdeğeri organların kontrolünde farklılaşarak B tipi lenfositler şeklinde olgunlaşmaktadır. Arter dolaşımıyla dokulara dağılan lenfositler, dokularda lenf damarlarıyla lenf düğümlerine, ductus thoracicus ve oradan venöz dolaşıma geçerler. Lenf düğümlerinin germinal merkezlerinde B, parakortikal bölgede T lenfositler yer almaktadır. B tipi lenfositlerin çoğu ve T tipi lenfositlerden kısa ömürlü olanlar, dokularda kalmaktadır. B lenfositlerin az bir oranı ve uzun ömürlü olan T tipi lenfositler periferik dolaşıma geçerler. Lenfositlerin dokularda kalmaları, yüzey reseptörleriyle ilgilidir. Lenfositler, farklı reseptörler taşımaları nedeniyle grup ve alt gruplara ayrılmaktadır. Değişik özelliklere sahip olan bu lenfositler; T, B ve Killer/Natural Killer (K/NK) tipi lenfositler olmak üzere üç ana grupta toplanmaktadır.

3.1.2.1. T Tipi Lenfositler

Timusun kontrolünde olgunlaşarak ikincil lenfoid organlarda yerini alan T tipi lenfositler hücresel immün cevaptan sorumlu olan hücrelerdir.⁷⁵ Kemik iliğinden çıkarak timusa gelen T öncü hücreleri, timus korteksinde hızla çoğalırlar. Bu küçük lenfositler kısa

ömürlüdürler. Bunların bir kısmı timus medüllasına geçerek timus epitelial hücre ve timus hormonlarının etkisiyle farklılaşmakta ve uzun ömürlü T lenfositleri adını almaktadır.⁷⁵ Bunlar artık yaşamlarını lenf düğümlerinin parakortikal bölgesinde, dalağın beyaz pulpasında, peyer plaklarında ve periferik kanda geçirirler. Kanda dolaşan küçük lenfositlerin % 70-80'i T lenfositlerdir. Lenfositler, timusda olgunlaşması sırasında ilerde karşılaşacakları antijenleri tanımaları için hücre membranlarına bağlı glikoprotein yapısında değişik reseptör molekülleri kazanırlar. Doğal olarak bulunan bazı reseptörlerini de kaybederler. Bu antijenler OKT serisi monoklonal antikorlarla belirlenebilmektedir. CD sistemiyle ifade edilen reseptör molekülleri, T lenfosit antijenleri olarak da isimlendirilmekte ve numaralandırılmaktadır.⁷⁵ T lenfositleri B lenfositlerinden ayıran temel özellik T tipi lenfositlerde bulunan CD2 reseptörü ile koyun eritrositlerine bağlanmasıdır. Bu özelliğinden yararlanılarak rozet testi ile T lenfositleri tanımlanmaktadır. T tipi lenfositlerin hücre membranında immünoglobulin reseptörlerinin bulunmaması, B tipi lenfositlerden ayıran diğer bir farklı özelliktir.

T lenfositlerin temel göstergesi, hücre membranında bulunan T hücre reseptörü (T cell receptor, TCR) dir. T lenfositlerinde iki tip TCR reseptörü bulunmaktadır. TCR-1, γ ve δ polipeptidlerinin; TCR2, α ve β polipeptidlerinin 2 disülfid bağlarıyla bağlanarak oluşturduğu heterodimerlerdir. TCR-1 ve TCR-2 reseptörleri, D3, kompleks reseptör molekülünün tamamlayıcısı olan polipeptidlerdir. T lenfositlerinde bulunan CD3 α/β ile CD3 γ/δ polipeptidleri, antijen tanıyan reseptörlerdir. CD3 kompleksi, bütün T tipi lenfositlerde bulunmaktadır. Bu CD3 kompleksinin görevi, antijen uyarısını lenfositlere aktarmaktadır. Bunun dışında, CD3/Tİ (CD3/TCR) reseptör kompleksi; T lenfositlerin aktivasyonunu. T_H lenfositleri tarafından interleokin-2 (IL-2) salgılanmasının düzenlenmesini fosforilasyonu, protein kinaz ve Ca⁺⁺ iyonlarının aktivasyonunu sağlamaktadır.⁷⁵

Periferik kanda bulunan T lenfositlerin % 95'i TCR-2 ve % 5'i TCR-1 içeren

lenfositlerdir. TCR-2 taşıyan lenfositlerin bir kısmında $CD4^+$, diğer bir kısmında $CD8^+$ reseptör molekülleri bulunmaktadır. Bu iki farklı alt gruptan $CD4^+$ reseptörlü içerenler yardımcı T lenfositleri T_H ile indükleyici T lenfositleri (T inducer, T_i), $CD8^+$ içerenler sitotoksik T lenfositleri (T cytotoxic, T_c) ile baskılayıcı T lenfositleri (T supressor, T_s)'dir. $CD4^+$ reseptörlü içeren T lenfositleri MHC sınıf II yönetimindeki antijenleri, $CD8^+$ reseptörlü içeren T lenfositleri ise MHC sınıf I yönetimindeki antijenleri tanımaktadır. $CD4^+$ reseptörlü T ve B lenfositleri, immün cevap ürünlerinin oluşumundan sorumlu hücrelerdir. $CD8^+$ reseptörlü hücreler immün cevabı frenleyici ve sitotoksik fonksiyonlara sahiptir. İnterlökin (IL-2) salgılayan Natural Killer (NK) hücreleri de $CD4^+$ reseptörleri ile ilişki kurmaktadır. Ancak bu NK hücreleri antijene bağlı olarak proliferasyon yapmazlar. $CD8^+$ reseptörlü içeren T lenfositleri, MHC kontrolündeki antijen moleküllerini tanıma ve IL-2 salgılamalarına göre alt gruplara ayrılmaktadır. Bazı TCR-1 T lenfositleri $CD8^+$ reseptörlü içermektedir. TCR, $CD4^+$ ve $CD8^+$ reseptörleri bulunan T lenfositlerin alt grupları içerdikleri diğer reseptörlere bağlı olarak görev ve fonksiyonları farklıdır. $CD4^+/CD8^+$ lenfositlerinin oranı 1.86'dır. T Tipi lenfositlerde bulunan antijenik göstergelerden $CD3^+$, $CD4^+$ veya $CD8^+$ reseptörlerinden başka reseptörlerde bulunmaktadır. T lenfositlerinde bulunan bu diğer reseptörler, farklı hücreler ile ilişki sağlayan reseptörlerdir.⁷⁵

3.1.2.2. Düzenleyici T Lenfositleri

Bu grupta bulunan T lenfositlerden bir kısmı aktivatör, diğer bir kısmı ise baskılayıcı etki göstererek immün cevabı düzenlerler. Yardımcı T lenfositleri ile indükleyici T lenfositleri aktivatör baskılayıcı T lenfositleri ise T_H ve B lenfositlerin fonksiyonlarını frenleyen lenfositlerdir. Bu hücrelerin kan ve dokularda bulunma oranları farklıdır. T_H lenfositlerinin görevi; timusa bağımlı antijenlerin uyarımı karşısında B lenfositlerine yardım ederek, onların plazma hücrelerine dönüşmesini ve immün cevap ürünü olan antikor sentezlemelerini sağlamak,

sitotoksik T lenfositleri (Tc) ile Ts lenfositlerini uyarmaktır. Aktivatör etkili Ti lenfositleri, ön T lenfositlerinde çeşitli fonksiyonel T lenfositleri haline gelinceye kadar farklılaşmaları başlatmaktadır. T_H ve T_i lenfositlerin hücre membranında $CD4^+$ reseptörleri bulunmaktadır. Antijen sunucu hücrelerin MHC sınıf II kontrolündeki reseptörler ile T_H ve T_i lenfositlerinde bulunan $CD4^+$ reseptörleri arasında bağlantı kurulmaktadır. Makrofajlar ve diğer antijen sunucu hücreler, bu reseptörler aracılığı ile antijen moleküllerini T_H lenfositlerine sunmaktadır. Bazı T lenfositleri bir antijen molekülünün uyarımı karşısında, sekonder immün cevapta rol oynayan bellek T lenfositleri haline döndürülür. Vücuda ikinci kez giren bir homolog antijen bu bellek T lenfositlerini aktive etmektedir. $CD4^+$ indükleyici T lenfositleri timus medullasında, kanda, intestinal lamina propriada ve tonsillerin parakorteksinde bulunmaktadır. Ts lenfositleri immün cevap esnasında B ve T lenfositlerinin üzerinde baskılayıcı etki göstererek immün cevap mekanizmasını düzenleyen hücrelerdir. Çoğunlukla kemik iliğinde bulunmaktadır ve B lenfositlerin olgunlaşmasını frenlerler. Ts tipi lenfositlerin hücre membranında $CD8^+$ reseptörleri bulunmaktadır. MHC sınıf I yönetimindeki reseptörlerle, Ts lenfositlerinde bulunan $CD8^+$ reseptörleri arasında ilişki kurulmaktadır. İmmün sistemin düzenli çalışması için T_H /Ts lenfositleri arasındaki oranın (1.86) dengede bulunması gerekmektedir. Ts lenfosit oranı azalır, T_H lenfositleri B lenfositlerini sürekli uyaracak, Ts lenfosit oranı artar veya T_H lenfosit oranı azalır, Ts lenfositleri B lenfositlerini sürekli baskılayacaktır. $CD4^+$ reseptörü içeren T_H lenfositleri yönünde değişmesi otoimmün hastalıkların oluşmasına, $CD8^+$ reseptörü içeren Ts lenfositler yönünde değişmesi immün cevap eksikliği ve immün sistem bozukluğu hastalıklarının (Acquired immune deficiency syndrome, AIDS gibi) oluşmasına yol açmaktadır.⁷⁵

3.1.2.3. Eylemci T lenfositler: Sitotoksik T(Tc) lenfositler

Sitotoksik lenfositleri, direk olarak kendileri veya salgıladıkları lenfokinleri aracılığı ile

hücresel immün cevapta etkili olan lenfositlerdir.⁷⁵ Çoğunlukla kemik iliğinde bulunmaktadır. Tc lenfositleri vücut savunmasında doğrudan yer alan tek lenfosit çeşitidir. Etkileri sonucunda, içlerinde virüs taşıyan hücreler ve tümör hücreleri öldürülür. Tc lenfositlerin çoğu, hücre membranında CD8⁺ reseptörle taşırlar. Bu reseptörler aracılığı ile hedef hücrelerde bulunan MHC sınıf I yönetimindeki antijenlerle ilişki kurarlar. Geç tip aşı duyarlılık reaksiyonlarında rol oynayan T delayed hypersensivi (Tdh) lenfositleri de bu grupta yer almaktadır.⁷⁵

3.1.2.4.Natural Killer (NK) lenfositler

Organizmada oluşabilecek neoplastik hücreleri yok etmekle görevli olan NK hücreleri, K ve Tc lenfositlerinden farklı bir gruptur. Kan dolaşımında ancak % 5-10 oranında bulunmaktadır. Tümör hücrelerinden başka, virüsle infekte hücreler ve IgG1 ve IgG3 antikolarıyla kaplı hedef hücreler üzerinde öldürücü etkisi vardır. Bu litik aktiviteye natural killer (NK) aktivitesi veya antikora bağımlı hücresel toksisite denilmektedir. Bu hücrelerin ne fagositoz nede yüzeye yapışma özellikleri vardır. Antijene özgül reseptörler veya Ig reseptörleri de taşımazlar. Bu nedenle makrofaja ve B lenfositlere benzemezler. NK hücrelerinin öldürücü etkisi, interferon denilen maddelerin bulunması halinde görülmektedir. NK hücreleri, immün cevapta önemli olan interferon gamma (INF γ) ve tümör nekroz faktörü (TNF) gibi diğer bazı stokinler salgılamaktadır. Bu hücrelerin hücre membranında bulunan karakteristik antijenik göstergeleri CD16'dır. Bunun dışında görevleri tam olarak bilinmeyen CD7, CD11b, CD45R, CD56⁺ ve CD57 reseptörleride bulunmaktadır.⁷⁵

3.1.2. 5. Periodontal Dokularda T lenfosit Trafiği

Lenfositlerin dokuya göçünde ilk basamak vasküler endotele bağlanmalarıdır. Bu olay, efektör lenfositler ve hedef dokuya ait endotel hücrelerindeki yüzey reseptörlerinde farklılaşma ile yönlendirilir. Hücreler ancak dokuya geçtikten sonra, antijen veya sitokinlerce yönlendirilen olayları gerçekleştirebilirler. Vasküler endotele bağlanan hücreler daha sonra, endotel hücre

aralıklarından damar dışına çıkarlar. Bu göçün amacı, antijenlerle onları tanıyan lenfositlerin temas edebilmesini sağlamaktır.⁷⁶ Karmaşık bir olay olan hücre göçü sadece hücre tipine değil, hücrenin farklılaşma ve aktivasyon evresine de bağlıdır.⁷⁶

3.1.2. 6. Periodontal Dokularda T Lenfosit Fonksiyonları

Dolaşımdan dokuya geçmiş olan hücrelerin burada kalmaları öncelikle özgün antijen varlığına bağlıdır. Antijen uyarımı sonucunda, adezyon sistemleri aktive olur ve lökositlerin lokal olarak doku alanında kalmalarını sağlar. Böylece bakteri antijenlerine karşı, spesifik T lenfositler, spesifik enfeksiyon alanında kalabilir ve iltihabı dişetindeki ileri immün reaksiyonları düzenleyebilirler.⁷⁶

İltihabın genel kuralına uygun olarak dişetinde de alana ilk göç eden polimorfontükleer lökositlerin, antijen eliminasyonunu sağlayamaması halinde lenfositler de damar dışına çıkarak periodontal dokularda görülmeye başlar. Periodontitis, dentogingival dokularda yoğun iltihabi hücre infiltrasyonu ile karakterizedir. Plazma hücrelerinin yoğunluğu, periodontal lezyon şiddetindeki artışla birlikte artar ve başarılı tedavi sonucunda azalma gösterir. B hücrelerinin bölünmesi ve farklılaşarak uygun antikor üreten plazma hücrelerine dönüşmesi için T hücrelerinin yardımına gereksinim olduğu bilinmektedir. Bu yüzden insanlarda periodontitis lezyonlarında, T hücrelerinin immün reaksiyonları nasıl düzenlediği konusu önemli bir araştırma alanını oluşturmaktadır.

$CD4^+/CD8^+$ immünregülasyonu belirleyen önemli bir indeks olarak kabul edilmekle birlikte,⁷⁷ periodontitiste bu oranın değişim yönü konusunda henüz fikir birliğine varlamamıştır. Son on beş yılda bu alanda yapılmış olan araştırmalardan bir kısmı farklı periodontitis tipleri arasında periferik kana ait $CD4^+/CD8^+$ oranı yönünden fark bulunmadığını bildirmişlerdir.^{6,7,78-}

⁸¹ Buna karşılık, hasta gruplarında saptanan periferik kan $CD4^+/CD8^+$ oranının sağlıklı kontrol grubuna göre düşük olduğunu bildiren raporlar olduğu gibi,⁸² bu oranın periodontal hastalıklı

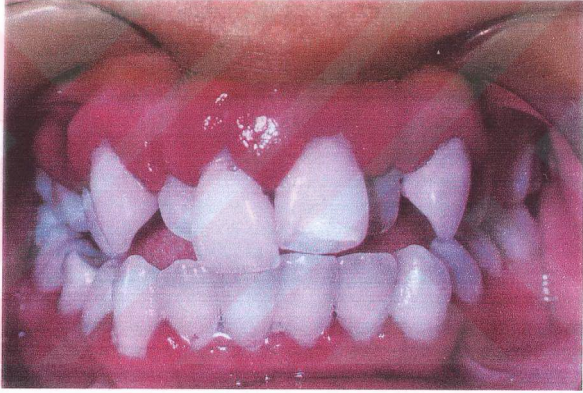
bireylerde sağlıklı kontrol grubundan yüksek olduğunu gösteren çalışmalar da vardır.^{83,84} Dişeti dokusundaki $CD4^+/CD8^+$ oranının araştırıldığı çalışma sonuçları da benzer şekilde çelişkili görülmektedir. Periodontitis hastalarından elde edilen dişeti biyopsilerinde söz konusu oranın sağlıklı dokuda ve periferik kanda elde edilen oranlardan düşük olduğunu ileri süren çalışmalar bulunmaktadır.^{79,85} Bununla birlikte, periodontitisli dokularda $CD4^+/CD8^+$ oranının sağlıklı dokuda ki orana kıyasla yüksek olduğunu ve diş etindeki iltihabın artması ile birlikte bu oranın da arttığını bildiriren çalışmalarda vardır.^{8,86,87}



GEREÇ VE YÖNTEM

1.1.Hasta seçimi

Araştırma, Atatürk Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalına, dişeti problemleri nedeni ile başvuran puberta dönemindeki 20 birey ile, yine Fakültemize dişeti problemleri haricinde farklı şikayetlerle müracaat eden puberta dönemindeki 20 birey olmak üzere toplam 40 birey üzerinde yürütüldü.



Resim 1. 13 yaşında Puberta gingivitisli bir kız çocuğunun klinik görünümü

Klinik ve radyografik (el-bilek, periapikal) verilere dayanılarak puberta gingivitisli tanısı konan bireyler araştırmamızın çalışma grubunu (Grup I) oluştururken, puberta döneminde ancak herhangi bir dişeti problemi olmayan 20 sağlıklı birey de kontrol grubunu (Grup II) oluşturdu.

Araştırmaya katılan bireylere ve ebeveynlerine çalışmanın yöntem ve amacı hakkında bilgi verildikten sonra, katılım için onayları alındı. Çalışma grubunun (Grup I)

seçiminde bireylerin puberta gingivitisi dışında bir oral problemi veya sistemik herhangi bir hastalığı bulunmamasına dikkat edildi. Ayrıca, bireylerin son 6 aylık dönem içerisinde ağız florasını, immün sistemi veya iltihabi yanıtı etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanmamış olmasına, periodontal tedavi görmemiş olmasına, erken yerleşen periodontitise dair herhangi bir belirti bulunmamasına ve dengeli bir oklüzyonun olmasına özen gösterildi. Kontrol grubunu (Grup II) oluşturan bireylerde puberta gingivitisi haricinde diğer tüm özelliklerin benzer olmasına dikkat edildi.

Tüm bireylerden medikal ve dental anamnez alındıktan sonra puberta döneminin belirlenmesi ve periodontal sağlığın tesbiti için bazı klinik indeks ve ölçümler yapıldı.

- √ Plak İndeksi (Silness-Löe)⁸⁸
- √ Gingival İndeks(GI) (Löe-Silness)⁵⁶
- √ Sondalanabilen Cep Derinliği (CD)
- √ Papil Kanama İndeksi (PBI) (Mühleman)⁸⁹
- √ Mobilite (Miller)⁹⁰
- √ El-Bilek Radyografisi

Klinik ölçümler, bütün dişlerin mezial, distal, lingual (palatinal), ve bukkal (labial) yüzlerinde olmak üzere 4 bölgede gerçekleştirildi. Sondalanabilen cep derinliği ölçümlerinde Williams'ın periodontal sondu kullanıldı ve interproksimal temas noktalarına en yakın noktalarda ölçüm yapılmasına çalışıldı. Sonuçlar milimetrik olarak ifade edildi. Klinik ölçümler ve radyografik değerlendirmelerden sonra periodontitis vakaları çalışma dışında bırakıldı.

Çalışma şartlarına uyan bireylerden biopsi ve periferik kan örnekleri alındı. Biopsilerin gingivitisi bulunan hastaların papil kısmından, gingivitisi bulunmayan

hastalarda ise çekim bölgesinden (ortodontik amaçlı, çürük vs.) alınmasına özen gösterildi.

Puberta gingivitisli bulunan hastalarda gerekli tedaviye başlanıp, hastalara oral hijyen eğitimleri verildi ve diş fırçalama tekniği model üzerinde anlatıldı, 3 hafta sonrasına kontrol için randevu verildi ve bu seansta da tekrar biopsileri alındı. Biopsi materyali her hastanın en yaygın derecede iltihaplı dişetinin bulunduğu bir diş bölgesinden elde edildi. Biopsi materyali sabah 9-10 saatlerinde alındı. Anestezi altında bistüri kullanarak interdental papilden 2 vertikal ensizyon yapıldı. Bu ensizyonların horizontal bir ensizyonla birleştirilmesi yoluyla alınan biyopsi materyali Phosphate Buffer Solution (PBS) solüsyonuna konuldu ve Flow cytometry analizi için hematoloji laboratuvarına gönderildi.

İstatistiksel analiz SPSS paket programı kullanılarak yapıldı. Grup içi ve gruplar arası değerlendirmelerde elde edilen klinik ölçümler ve laboratuvar sonuçları arasındaki ilişkiyi belirlemek için eşleştirilmiş t testi ve student t testi kullanıldı.

1.2.Flow Cytometry ile T-Lenfosit Alt gruplarının Değerlendirilmesi

Flow Cytometry sisteminin çalışma prensibi, hücrelerin analizi ve aletin ayarlama prensibine göre yapılır. Hücre analizi için vücut sıvıları ve parafine gömülmüş dokular kullanılır. Aletin kalibrasyonu ise polystyren kaplı beadler kullanılarak yapılır.⁹¹

1.2.1.Hücre Analizi

Bir örneğin flow cytometry ile analizinde hücrelerin süspansiyon haline getirilmesi ve hücrelerin monoklonal antikor ile işaretlenmesi ana kuraldır.

1.2.1. A. Hücre süspansiyonunun hazırlanması

Vücut sıvıları doğal olarak süspansiyon halinde olduğu için, hemen kullanıma hazırdırlar. Dolayısıyla vücut sıvıları ile çalışmak kolaydır. Solid dokuların ve parafine fikse edilmiş dokuların ise parçalanıp belirli büyüklükteki filtrelerden geçirilmesi, süspansiyon hale getirilmesi gerekmektedir. Bizim çalışmamızda da biyopsi materyalleri süspansiyon haline getirilmek için bistüri ile küçük parçalara ayrıldı ve belirli büyüklükte filtrelerden geçirildi.

1.2.1. B. Hücrelerin Flow Cytometry analizi için belirlenmesi

Hücrelerin izolasyonundan ve saf eldesinden sonra bir veya daha fazla floresana bağlı monoklonal antikor veya diğer kromoforlar hücre ile muameleye tabi tutuldu. İmmünfluoresan işaretlemeye İndirek immünfluoresan işaretleme tekniği kullanıldı. Burada direk ve indirek immünfluoresan işaretleme tekniğini kısaca izah edecek olursak;

i-Direk metotta antikorla konjuge olmuş fluorokrom madde kullanılır. Hücre süspansiyonu FITC (veya Rhodamin. PE) işaretli antikor ile 30 dakika inkübe edilir. İnkübasyon sonrası bağlanmayan antikorları uzaklaştırmak için 3 kez PBS ile yıkanır. Daha sonra formalin eklenerek hücreler flow cytometry' de analize hazır duruma getirilir.

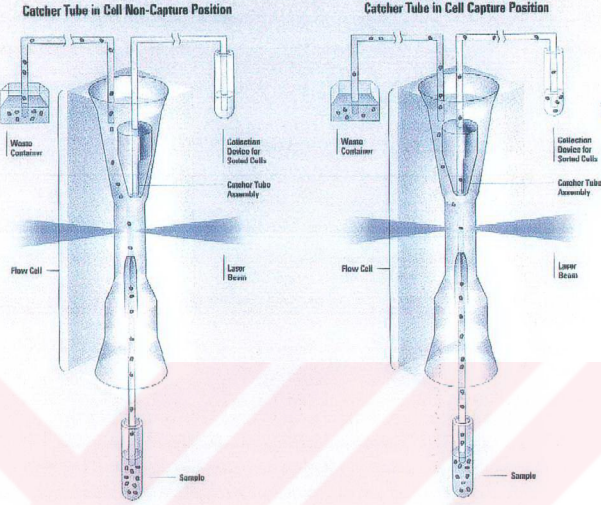
ii-İndirek metotta ise; süspansiyon halindeki hücrelere ilk olarak işaretli monoklonal antikor bağlanır. İşaretsiz monoklonal antikorla birleşmiş bu hücrelerin alette analizi için ikinci bir işaretli monoklonal antikora ihtiyaç vardır. Bu ikinci antikor, hücre ile bağlı durumda olan birinci antikora bağlanır. Bağlanmayan antikorların uzaklaştırılması için 3 kez PBS ile yıkanın hücrelere formalin eklenir ve hücreler flow cytometry' de analize hazır hale getirilir.

1.2.2.Flow analizi

Flow cytometry birçok sistemin birleşmesinden oluşmuştur. Bunlar; örnek toplayıcı ve taşıyıcı sistem, akış sistemi (Sheath Fluid), ışık kaynağı (lazer ışığı), sferik ve çapraz silindirik filtreler, odaklama aynaları, sinyal dedektörleri (optik sinyal ve elektrik sinyali), bilgisayar (data toplanması, saklanması, sunumu ve analizi) ve ayırma mekanizması (cell sorting) dir.⁹¹

Süspansiyon halindeki hücreleri alete vermeden önce lazer, bilgisayar ve elektronik sistemler devreye sokulur. Polysteren kaplı partiküllerle (beads) lazer ayarı yapılır. Bu aletin kalibrasyonunu sağlar. Standart ve kontrollerin verilmesi ile de örneğin kalibrasyonu yapılır. Daha sonra çalışacak populasyon monitörde işaretlenir, histogramların ayarı yapılır ve örnek alete verilir.⁹¹

Süspansiyon halindeki işaretli hücreler veya partiküller (mikroorganizmalar, kromozomlar ve hücreler) hava basıncıyla Sheat Fluid içinden geçirilir. Sheat Fluid içindeki sıvının akışı çok hızlı olduğundan yüksek bir basınç oluşturur ve bu basınç ile hücreler cam veya quartzdan yapılmış Flow Chamber'a (akış kabine) gelirler. Bu kabinin geometrik şekli ve sıvının laminar akışı, hücrelerin tek bir sıra halinde geçişini sağlar ve tek sıra halindeki hücreler lazer ışığının içinden geçerek görüntü hale gelirler. Lazer kaynağı olarak; argon iyonu, crypton, helium cadmium, helium- neon veya daha yüksek yoğunluktaki ışık kaynakları kullanılır. İşaretlemede kullanılan probalar lazer ışığıyla aktive olduklarından ışın yayarlar ve bu sayede tesbit edilerek pozitif hücrelerin sayı ve yüzdesi ölçülmektedir.



Resim 2. Flow Cytometry'nin şematik görünümü

1.3.Kan Örneklerinin Alınması

Kan alınması için çalışmaya dahil edilen gruptaki kişiler 10-12 saatlik açlıktan sonra sabah 09⁰⁰-10⁰⁰ saatleri arasında Biyokimya laboratuara çağrıldılar. Her bir olgudan önkol_venlerinden vakumlu biyokimya tüplerine (Vacutainer[®]) 4-5 ml kan alındı. Tüpler oda sıcaklığında alınan kanın pıhtılaşması için 10-20 dakika bekletildikten sonra santrifüj cihazında 3500 devirde 10 dakika çevrildi. Üstte kalan serum kısmı başka bir tüpe aktarıldı ve -80 °C 'de derin dondurucuda deney gününe kadar bekletildi. Örnekler toplandıktan sonra deney günü tamamı toplu olarak çözüldü ve tek bir seansta serum Free Testesteron (FT), Total Testesteron (TT) ve E₂ seviyelerine bakıldı.

1.3.1.E₂ Ölçümü

Serum E₂ ölçümü için ACS 180® (Automated Chemiluminescence System, Bayer, USA) cihazı kullanıldı. Ölçüm prensibi kemilumminesent metoduna göre yapıldı. 50 µL Releasing Agent bir kütete kondu. 50 µL Life Reagent ve 300 µL solid phase ile 37 °C'de 5 dakika inkibasyona bırakıldı. Kütetelerin aspirasyon ve yıkanmasından sonra 300 µL Reagent 1 ve Reagent 2 (Kemilumminesent reaksiyonunu başlatmak için) eklendi ve sonuçlar ekrandan kaydedildi.

1.3.2.TT Ölçümü

Serum testesteron ölçümü içinde ACS 180® (Automated Chemiluminescence System, Bayer, USA) cihazı kullanıldı. Ölçüm prensibi kemilumminesent metoda göre yapıldı. 15 µL Releasing Agent bir kütete konuldu. 50 µL Life Reagent ve 300 µL solid phase ile 37°C'de 5 dakika inkibasyona bırakıldı. Kütetelerin aspirasyon ve yıkanmasından sonra 300 µL Reagent 1 ve Reagent 2 (Kemilumminesent reaksiyonunu başlatmak için) eklendi ve sonuçlar ekrandan kaydedildi.

1.3.3.FT Ölçümü

Serum free testesteron ölçümü Radioimmunoassay(RIA) metoduyla hazır kit (Aktive® Free Testosterone RIA DSL-4900, USA) kullanılarak DPC Gamma C12, USA cihazında yapıldı ve ölçüldü. 50 µL free testesteron tüpler içerisine konuldu. Bütün tüplere Free Testeston (I-125) Reagent 200 µL eklendi. Tüpler çalkalandı. 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi. Bir Gamma counter'da bütün tüplerde birer dakikalık sayım yapıldı. Sonuçlar belirli formüle yerleştirilerek hesaplama yapıldı.

1.4.El-Bilek filmlerinin incelenmesi

Pubertal büyüme atılımının güvenilir şekilde değerlendirilmesinde, el-bilek kemiklerinden yararlanıldı. El-bilek kemiklerindeki olaylar, kemiklerdeki ossifikasyon olayları ve epifizlerdeki değişimler olmak üzere iki ana grupta incelendi.

Pubertal büyüme atılımı ve safhalarını incelemek için en çok os pisiformis (nohutsu kemik), os hamatum (çengel kemik) ve sesamoid (susamsı) kemiklerden yararlanıldı.

Pisiform kemik, hamatum'un çengeli ve sesamoid kemiklerin radyografilerde yeni görülmeye başladığı dönem pubertal büyüme atılımının başladığı dönem olarak kabul edildi. Pubertal büyüme atılımının safhalarını belirlemek için de falanks kemikleri ve epifizlerinden yararlanıldı.

El-bilek radyografilerine göre iskelet yaşı ve olgunlaşma durumunu belirlemek için diğer dikkate alınması gereken kemikler el kemikleri ya da metakarp'lardır ki bunlarda beş tanedir. Baş parmaktan küçük parmağa doğru I' den V'e kadar numaralandırılırlar. Ancak baş parmağın yani I. Metakarp'ın epifizi diğer metakarp epifizlerine göre ters yöndedir.

Pubertal büyüme atılımını belirlemek amacıyla Bowden⁹²'in, Greulich – pyle⁹³ atlasından yararlanarak geliştirdiği Pubertal büyüme atılım evreleri kullanıldı.Buna göre;

Orta falanks epifizleri, diafizleri ile eşit boyda ise, “ adolescent büyüme atılımı” başlamamış; distal falanks epifizleri diafizlerini örtmüş ise, “ adolescent büyüme atılımı” başlamış; orta, falanks epifizleri diafizlerini örtmüş ise “ adolescent büyüme atılımının tepe noktası”na erişmek üzere; distal falanks epifizleri diafizleriyle kaynaşmaya başlamışsa, “ adolescent büyüme atılımının tepe noktası “ aşılmış; orta

falanks epifizleri diafizleri ile kaynaşmaya başlamışsa, “ adolescent büyüme atılımı” sona ermek üzere; hem proksimal, hem de distal falanks epifizleri diafizleri ile kaynaşmış ise, “ adolescent büyüme atılımı” sona ermiş olarak değerlendirilmeye tabi tutuldu.

İskelet olgunluğunu metodolojik bir yaklaşımla ve kolay bir şekilde değerlendirmek için, ayrıca Fishman^{94,95} tarafından geliştirilmiş iskelet olgunluk indikatörleri de dikkate alındı. Bu değerlendirmede ise baş parmak, üçüncü (orta) parmak, beşinci parmak ve radius kemiği üzerinde yerleşmiş, toplam 6 anatomik bölgede bulunan 11 ayrı iskelet olgunluk kriterleri değerlendirildi.



B



C



D



E



F



G



H

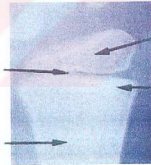


I



Epiphyseal plate
or cartilage

Diaphysis



Epiphyseal centre

Metaphysis

Resim 3. Pubertal büyüme atılımının tespitinde yararlanılan, el-bilek kemiklerindeki ossifikasyon olaylar ve epifizlerdeki değişimler

BULGULAR

Araştırmaya dahil edilen toplam 40 bireyden, klinik ve radyografik verilere dayanılarak puberta gingivitisi tanısı konan çalışma grubunu (grup I) oluşturan 20 bireyin yaş ortalaması 13.68 ± 1.40 iken, puberta döneminde ancak herhangi bir dişeti problemi olmayan, kontrol grubunu (grup II) oluşturan 20 sağlıklı bireyin yaş ortalaması 13.05 ± 1.51 olarak tespit edildi.

Çalışma ve kontrol grubunun başlangıç Plak İndeksi, Gingival İndeksi, Sondalanabilir Cep Derinliği ve Papil Kanama İndeksi Değerleri Tablo 2’de gösterildi. Başlangıçta Puberta gingivitisi tanısı konan Grup I’de Plak İndeks değerleri puberta gingivitisi tanısı konmayan Grup II’den daha fazla bulundu. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0,001$). Benzer şekilde Başlangıç Gingival İndeks, Sondalanabilir Cep Derinliği, Papil Kanama İndeksi değerleri de Grup I de Grup II’den daha fazla bulundu. Elde edilen tüm veriler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$).

Birinci grubun başlangıç ve tedavi sonrası bütün indeks değerleri Tablo 3’de verildi. Plak İndeksi, Gingival İndeks, Sondalanabilir Cep Derinliği ve Papil Kanama İndeksi’nde Tedavi sonrasında Tedavi öncesine göre bariz bir düşüş görüldü. Bu azalma bütün indekslerde istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$).

Çalışma grubunun puberta gingivitis tedavisi sonrası elde edilen verileri ile sağlıklı grubun başlangıç indeks değerleri Tablo 4’de verildi. Grup I tedavi sonrası Plak İndeksi, Gingival İndeks, Sondalanabilir cep derinliği ve Papil kanama İndeksi değerleri Grup II’den rakamsal olarak biraz fazla idi. Fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).

Puberta gingivitisli grubun tedavi öncesi ile Sağlıklı kontrol grubun $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$ ve $CD16^++56^+$ değerleri Tablo 5’de yansıtıldı. Grup I’in tedavi öncesi $CD4^+$ ve $CD8^+$ değerleri Grup II’ in $CD4^+$ ve $CD8^+$ değerlerinden numerik olarak düşük bulundu. Fakat bu fark istatistiksel olarak önemli değildi ($p>0,05$). Grup I tedavi öncesi $CD16^++56^+$ değerleri ise Grup II $CD16^++56^+$ değerlerinden rakamsal olarak yüksek idi. Fakat bu değerlerdeki yükseklikte istatistiksel açıdan önemli bulunmadı ($p>0,05$). Grup I tedavi öncesi $CD4^+/CD8^+$ değerleri Grup II $CD4^+/CD8^+$ değerlerinden farklıydı. $CD4^+/CD8^+$ arası bu farklar istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p<0,05$).

Grup I’de Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$ ve $CD16^++56^+$ değerleri Tablo 6’de verildi. Grup I tedavi öncesi $CD4^+$, $CD8^+$ ve $CD16^++56^+$ değerleri tedavi sonrasında bir artış gösterdi. Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası $CD4^+$ ve $CD8^+$ değerleri arasında ki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,001$). $CD16^++56^+$ değerindeki artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Grup I’ de tedavi öncesi $CD4^+/CD8^+$ değerleri tedavi sonrasında azalmış olarak bulundu. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlı olarak tespit edildi ($p<0,05$).

Puberta Gingivitisli grubun tedavi sonrası ile Sağlıklı kontrol grubu $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$ ve $CD16^++56^+$ değerleri Tablo 7’da verildi. Grup I tedavi sonrası $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$ ve $CD16^++56^+$ değerleri Grup II değerlerinden yüksek bulunmuştur. Grup I ve Grup II için $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$ ve $CD16^++56^+$ arasındaki farklılıklar, $CD4^+$ ve $CD8^+$ değerleri için istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0,05$), $CD4^+/CD8^+$ ve $CD16^++56^+$ değerleri için istatistiksel açıdan anlamsızdır ($p>0,05$).

Puberta Gingiviti ve Sağlıklı kontrol grubu E_2 , FT, TT değerleri Tablo 7’de verilmiştir. Grup I E_2 , FT , TT Grup II E_2 , FT , TT değerlerinden yüksek bulunmuştur.

Fakat değerlerdeki bu yükseklik istatistiksel açıdan anlamlı değildir($p>0,05$). Seks hormon değer sonuçları arasında bireysel farklar oldukça yüksek bulunmuştur. Bireysel farkların yüksekliği standart sapma (SD) miktarını değiştirirdi için, gruplar arası fark anlamlı bulunamamış olabilir. Bu nedenle gelecekte hormon seviyeleri arasında olduğu düşünülen farkı ortaya koymak için örnek sayısının artırılarak SD miktarı en aza indirilerek çalışmalar yapılmasında fayda vardır.

Tablo 2. Her iki grubun başlangıç klinik indeks değerleri ve bu parametrelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması.

	n	Grup I (Başlangıç)	Grup II (Başlangıç)	t
Plak İndeksi	20	2,04±0,58	0,44±0,35	9,69***
Gingival İndeksi	20	1,39±0,50	0,28±0,29	7,88***
Sondalanabilir Cep Derinliği	20	1,58±0,14	1,31±0,11	28,89***
Papil Kanama İndeksi	20	1,45±0,68	0,22±0,22	6,89***

*** $p < 0.001$

Tablo 3. Grup I'in tedavi öncesi ve tedavi sonrası klinik indeks değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması .

	n	Grup I Tedavi Öncesi	Grup I Tedavi Sonrası	t
Plak İndeksi	20	2,04±0,58	0,56±0,35	11,40***
Gingival İndeks	20	1,39±0,50	0,46±0,35	10,35***
Sondalanbilir Cep Derinliği	20	1,58±0,14	1,34±0,10	8,46***
Papil Kanama İndeksi	20	1,45±0,68	0,27±0,23	7,68 ***

*** p< 0.001

Tablo 4. Grup I'in tedavi sonrası ile Grup II' nin başlangıç klinik indeks değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması .

	n	Grup I (Tedavi Sonrası)	Grup II Başlangıç	t
Plak İndeksi	20	0,56±0,35	0,44±0,35	1,01
Gingival İndeks	20	0,46±0,35	0,28±0,29	1,62
Sondalanbilir Cep Derinliği	20	1,34±0,1	1,31±0,11	0,63
Papil Kanama İndeksi	20	0,27±0,23	0,22±0,22	0,60

p>0.05

Tablo 5. Grup I'in ve Grup II'nin başlangıç CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ ve CD16⁺+56⁺ değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması.

	n	Grup I (Başlangıç)	Grup II (Başlangıç)	t
CD4 ⁺	20	23,50±4,86	24,1±4,79	-0,37
CD8 ⁺	20	13,81±3,6	15,8±2,84	-1,80
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	20	1,75±0,28	1,53±1,65	2,79*
CD16 ⁺ +56 ⁺	20	12,63±2,78	12,35±2,35	0,32

p>0.05; *: p<0.05

Tablo 6. Grup I'in tedavi öncesi ve tedavi sonrası CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ ve CD16⁺+56⁺ değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması.

	n	Grup I (Tedavi Öncesi)	Grup I (Tedavi Sonrası)	t
CD4 ⁺	20	23,50±4,86	27,50±4,15	-4,75***
CD8 ⁺	20	13,81±3,6	17,63±2,42	-4,47***
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	20	1,75±0,28	1,56±0,14	2,63*
CD16 ⁺ +56 ⁺	20	12,63±2,78	13,25±2,57	-0,88

p>0.05; *: p<0.05 ; *** p<0.001

Tablo 7. Grup I'in tedavi sonrası ve Grup II' nin başlangıç CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ ve CD16⁺+56⁺ değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması .

	n	Grup I (Tedavi Sonrası)	Grup II (Başlangıç)	t
CD4 ⁺	20	27,50±4,15	24,1±4,79	2,28
CD8 ⁺	20	17,63±2,42	15,8±2,84	2,08
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	20	1,56±0,14	1,53±1,65	0,68
CD16 ⁺ +56 ⁺	20	13,25±2,57	12,35±2,35	1,08

p>0.05

Tablo 8. Grup I'in ve Grup II' nin başlangıç EST, TF ve TT değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması .

	n	Grup I (Başlangıç)	Grup II (Başlangıç)	t
E ₂	20	25,29±27,81	16,41±18,15	-0,90
FT	20	83,2±95,29	40,32±62,20	-1,52
TT	20	2,91±3,58	1,43±2.00	1,30

p>0.05

TARTIŞMA

Periodontal hastalığın primer nedeni bakteri plağıdır. Bakteri plağı ve ürünleri direk^{96,97} ya da indirek^{98,99} (hücre kaynaklı yıkımlar sonucu) olarak, periodontal dokuların bir yandan hastalıklı bir klinik görüntüş yansıtmalarına, diğer yandan da doku fibroblastlarında şiddetli sitopatik değışiklikleri sergilemelerine neden olurlar.^{98,100}

İmmünoloji bilimindeki ilerlemeler periodontal hastalıklarının yeni bir perspektif ile değlendirmesi imkanını doğurdu.¹⁰¹ Böylece yalnızca immün sistemin defans fonksiyonu hakkında değil, aynı zamanda periodontal hastalıklarda görölen lezyonlara özgü ürünlerin de bu olaya katılımı hakkında bilgiler edinildi¹⁰² Bu bağlamda, periodontal lezyonların makrofaj ve polimorfontüklear (PMN) hücreler, komplement, T-lenfositler ve mast hücrelerinin etkilerinin bir sonucu olarak ortaya çıktığı vurgulandı.¹⁰³ Farklı konak komponentlerine (özellikle kollojene) karşı oluşa antikörlerin belirlemesini temel alan çalışmalarda da periodontal hastalıkta otoimmün bir olayın varlığı üzerinde duruldu.¹⁰⁴ Keza humoral ve hücresele immün yanıt faktörlerinin periodontal hastalık patogenezisindeki rolü son yıllarda periodontoloji alanında en hızlı ilerleyen araştırma konularından biri oldu. Bu doğrultuda yapılan farklı çalışmalarda T hücre fonksiyonun bakterial plağa karşı oluşa hem humoral hem de hücresele immün cevapta bir regülatör olarak büyük öneme sahip olduğu belirtildi.¹⁰⁵ Humoral immün yanıt temel olarak subgingival bakteri plaklarına karşı antikör üretimini kapsarken, hücresele immün yanıt periodontal lezyonda yer alan hücre popülasyonunu ifade etmektedir. Şöyle ki, antijenle karşılaşmayı takiben stokinlerin (makrofajlar tarafından üretilen IL-1 ve T hücreleri tarafından üretilen IL-2 gibi) sititoksik T lenfositlerin sitopatik etkisini

arttırdığı, antikor üreten B hücre kolonilerinin farklılaşma ve stimule olmasına neden olduğu gösterildi.¹⁰⁶ Ayrıca, stokin sekresyonunun, periodontitisin belirli tiplerinde bulunan NK hücrelerinin hücre yıkım kapasitesini ve farklı bakterial plak komponentlerini fagosit eden makrofajların kapasitelerini etkilediği bildirildi.¹⁰⁷ Bu anlamda bakteri plağı içeriğinin gerçekte hedef hücre oranında bir artışa neden olacağı ve bu yüksek oranda ki hedef hücreye karşı NK aktivitesinin arttırabileceği hipotezi ileri sürüldü. Bu nedenle periodontal lezyonlarda farklı bakteri plak içeriğine bağlı NK aktivite kontrolüne bakmak faydalı olacağı sonucuna varıldı.¹⁰⁷

T ve B hücrelerdeki artış sonucu gingival değişikliklerin gözlemlendiği belirtildi. Dolayısıyla gingivitis ve periodontitisin gingival lenfosit ve monositlerin sayılarında artışı gerektireceği vurgulandı.

Çocuklarda yapılan değerlendirmelerde de, gingivitisin periodontitise dönüşmeyen stabil bir lezyon olduğu rapor edildi. Yapılan çalışmalarda Puberta gingivitisde bağ dokusu içinde dominant hücre tipinin T lenfositler olduğu, çocuk gingivitisin T hücre lezyonu olarak anılmasının doğru bir yaklaşım olacağı bildirildi.⁷¹ Aynı araştırmacılar tarafından gingivitisin periodontitis şekline dönüşümü esnasında baskın hücre popülasyonu T hücrelerinden B hücrelerine doğru kaydığı gösterildi. Şüphesiz klinik pratikte, intragingival B-T değişimini izlemek imkansızdır. İntragingival T hücre suppopülasyonunda değişiklikler, Periodontitiste T hücre popülasyonlarının varlığı ve B hücre aktivitesindeki artış periodontal hastalıkta B hücrelerinin T hücre regülasyonlarını (disfonksiyon) değiştiren bir varsayıma yol açar. Bu varsayım doğru ise, T hücrelerinin fenotip değişimlerinin gözlenmesi imkan dahilinde olabilir. Çünkü fenotip ve T hücre fonksiyonları birbiriyle alakalıdır.

Hücresel immünitinin efektör hücreleri olan $CD4^+$ ve $CD8^+$ T lenfositleri hücresel immün yanıtta başka humoral immün yanıt ve nonspesifik iltihabi reaksiyonlarda yönlendirebilme yeteneğine sahip oldukları için immünoregülasyonda merkezi bir role sahiptirler. Dolayısıyla $CD4^+/CD8^+$ oranı immün sistem fonksiyonlarına ait önemli bir parametre olarak kabul edilmelidir. Nitekim Taubman ve ark¹⁰⁸ tarafından bu parametrelerden yararlanarak yapılan çalışmalarda, Agressif periodontitis ve kronik periodontitis gibi iki farklı periodontal hastalıkta periodonsiyumdaki lenfosit ve mononükleer hücrelerde farklılaşmaların olabileceği rapor edildi. Elde edilen bulgulara göre periodontal hastalıklı dokulardan alınan lenfosit sayısının normal dokulardakinden yaklaşık üç kat daha fazla olduğu bildirildi. Diğer yandan hem KP hemde AP' de $CD4^+ / CD8^+$ oranlarının 1:1' olduğu bildirilmesine rağmen, Puberta gingivitisde $CD4^+ / CD8^+$ oranının genellikle 2:1 olduğunu vurgulandı.^{71,108,109} Bu sonuçlar, immunoregülatör değişikliği ve mononükleer hücre (monosit- lenfosit) aktivitesi ile ilgili olarak JP'nin AP' ye benzer olduğunu göstermektedir.

Periodontal hastalıkta etki eden immünoregülasyon mekanizmalarının belirlenmesi amacıyla sistemik düzeyde yapılan bu araştırmaların, lokal düzeyde desteklenmesi önerildi.⁹ Bu amaçla yapılan çalışmalarda hastalıklı ve sağlıklı bireylerde dokulardaki $CD4^+/CD8^+$ oranlarının periferik kandaki $CD4^+/CD8^+$ oranlarla karşılaştırılması yapıldı. Sağlıklı dokularda ki $CD4^+/CD8^+$ oranlarının periferik kandaki $CD4^+/CD8^+$ oranlarından farklı olmadığı tespit edilmesine rağmen periodontal lezyondaki $CD4^+/CD8^+$ oranları ile periferik kan $CD4^+/CD8^+$ oranlarındaki farklı olduğu tespit edildi. Bu farklılığın periodontal lezyonda immün yanıtın lokal olmasına bağlandı. Bu nedenle daha sonraki çalışmaların dişeti

dokusunda doku ekstereleri veya doku kesitlerinde yürütülmesinin daha doğru yaklaşım olacağı sonucuna varıldı.⁹

Periodontal hastalık patogenezisinde humoral ve hücrel immün yanıtın rolünü değerlendiren çalışmalar yapılırken, diğer yandan immün sistem üzerine etki eden faktörleri değerlendiren çalışmalarda başlanılmıştır.¹¹⁰ Bu bağlamda immün sistemi situmule eden hormonlar üzerine pek çok çalışmaya yer verildiği görülmektedir. Cross-sectional ve longitudinal çalışmalarda, puberta, gebelik ve menstrasyon gibi özel durumların hormonal farklılaşmaların yaşandığı en önemli periyotlar olarak ele alındığı görülmektedir.^{111,112} Farklılaşan hormonların gingivanın altındaki flora kompozisyonunu değiştirerek bu floraya bazı elementler ile asıl besinlerini sağlayarak direk ve indirek olarak etki edebilecekleri bildirilmiştir.²² İn vitro çalışmalarda progesteron veya östrojen gibi sex hormonlarının belli seviyelerinin melanigenikoz ve intermedius bakterilerinin büyümlerine etki ettiği gösterilmiştir.^{113,114} Biswas ve ark. 1977'de bakteri plağı, diştaşı ve PH üzerine kadın sex hormonlarının muhtemel biyokimyasal etkisine dikkat çekerken, diğer araştırmacılar sex hormonlarından dolayı gingival iltihaplanmaya olan eğilime işaret etmektedirler.¹¹⁵ Bunun vasküler bir cevabın sonucu olduğu, sex steroidlerinin gingival bağlantı dokusunun değişik seviyelerinde, ven duvarlarında kan akımında değişiklik ve vazidülatasyona sebebiyet verebileceği, bunu damar permeabilitesinde bir artışın takip edebileceği rapor edilmiştir.¹¹⁶ Biswas ve ark.¹¹⁵ 1977'de çalışmalarında gingival sıvı miktarının (Gingivitis ile alakalı) prepubertadan postpuberta periyoduna geçişte arttığını göstermişlerdir. Pek çok çalışma gebelik ve puberta esnasında artan oranda görülen gingivitisin östrojen ve progesteron seviyelerindeki değişikliklerle ilişkili olduğunu göstermektedir.

Çalışmamız, hormonal değişikliklerin en fazla yaşandığı, çocukluktan ergenliğe geçiş safhası olan puberta döneminde olan bireylerin, dişeti doku kesitlerinde humoral ve hücrel immün yanıt faktörlerinin periodontal hastalık patogenezisindeki rolü belirlenmesi amacıyla yapıldı. Sonuçlar klinik ve laboratuvar bulgulara dayandırılarak değerlendirildi.

Günümüze kadar çocuğun büyüme ve gelişimini belirlemede birçok kriterden yararlanılmıştır. Kronolojik yaş, diş yaşı, boy ve ağırlık artışları, sekonder seks karakterleri, menarş yaşı ve kemikyaşı gibi kriterlerle büyüme ve gelişimin yorumu yapılmıştır.^{117,118} Ayrıca bu dönemde, kanda sex steroid hormonlarında belirli bir artış gözlenmesi, çocuğun görünümde oluşan değişiklikler, fiziksel büyüme ve güçlenmeye paralel gelişen ruhsal tepkiler büyüme ve gelişimin yorumunu destekleyen bulgular olmuşturlardır. Kliniğimize gelen hastanın psikolojik durumu detaylı bir şekilde incelenemeyeceği için bu bulgular puberta dönemini belirlemede eksik, uygulaması zor ve analizi hata yapmaya müsaittir. Pubertanın tayininde TANNER⁴⁸ ın sınıflandırması meme gelişimi ve genital gelişimi incelenerek yapılmış ve puberta dönemi 5 safhaya ayrılmıştır. Tanner'in sınıflandırması bütün dünya'da geçerli bir sınıflandırma olmasına rağmen diş hekimi kliniğinde uygulaması zor, imkansız bir sınıflandırma şeklidir. Bu nedenle çalışmamızda puberta dönemini tayin etmek için iskelet sisteminin gelişimini, diğer bir ifadeyle kemik yaşını ve iskelet olgunluk durumunu saptamak için kemikleşme bölgelerinden yararlanmayı uygun gördük. Bunlar arasında en çok kullanılan iskelet sahaları ayak, ayak bileği, kalça, dirsek, el-bilek ve servikal vertebralardı . Çalışmamızda el-bilek radyograflerinden faydalanıldı. Puberta büyüme atılımını belirlerken Greulich-Pyle⁹² atlası kullanıldı. Bu atlasdan yararlanılırken, Türk

çocuklarına yönelik Kinik ve ark⁴⁶ ve Koç ve ark⁴⁷ önerileri de dikkate alındı. Çünkü, GP atlası Amerikan beyaz ırkına ve belli bir sosyoekonomik düzeydeki bireylere yönelik hazırlanmıştı.

Hücrelerin biokimyasal ve fiziksel özellikleri senelerdir mikroskop analizleri kullanılarak saptanmaktaydı. Işık mikroskobundaki görüntünün yorumu, elektron mikroskobu ve immühistokimyasal yöntemlerin yardımına rağmen temel de araştırmacının tecrübesine ve deneyimine bağlıdır ve sonuçta insan gözünün kararıyla sınırlıdır. Dolayısıyla sonuçların subjektif yorumlanması ışık mikroskobunun en önemli dezavantajı olmuştur. Buna ek olarak, ışık mikroskobu yorucudur ve çok sayıda hücrenin hızlı tayini için uygun değildir. Çünkü mikroskop ile inceleme her bölgenin teker teker taranmasını zorunlu kılan bir işlem gerektirmektedir ki, bu da daha fazla zaman gerektiren bir uğraşıdır. Işık ve elektron mikroskobun aksine flow cytometry ile hücreler tek hücre seviyesinde incelenirler (immünfenotiplleme) ve hücrelerin fiziksel ve biyolojik özelliklerinin kantitatif ölçümleri doğru olarak yapılır. Modern flow cytometry, bilgisayar teknolojisi, optik ve elektronik alandaki teknik gelişmeler, monoklonal antikorların üretimi, sitokimyasal boyamalar ve florokrom kimyasındaki gelişmelerin birarada uygulanması sonucu ortaya çıkmıştır. İlk önceleri sadece araştırma amacıyla kullanılan flow cytometry daha sonraları objektif olması, ucuz ve çabuk sonuç vermesi nedeniyle, pratik olarak klinikte de kullanılmaya başlanmıştır. Buna ek olarak hücrelerin multiple- parametreleri arka arkaya ölçülebilir ve hücre popülasyonları bir veya birkaç parametrenin temelinde birbirinden ayırt edilebilir. İmmünfenotiplleme, hücre fonksiyonunun bir değişkeni olan hücre antijenlerini çeşitli metotlarla tayin etme anlamında kullanılmaktadır. İmmünfeno tiplmede

eskiden beri en yaygın kullanılan teknikler; immünfloresan (IF) ve immünohistokimya (IHK) tekniğidir. İki renkli immünfloresan teknik, lenfosit fenotipi ile fonksiyonu arasındaki ilişkiyi araştıran basit bir metottur ve işlevi; membran molekülleri taşıyan lenfosit ana gruplarını, fonksiyon açısından farklı alt gruplara ayırmaktır. İmmünfloresan tekniğin immünohistokimya tekniğine göre avantajları arasında daha hızlı bir teknik olması, antijen analizinin daha kesin olarak yapılabilmesi ve zayıf antijenlerin belirlenebilmesi sayılabilir. En önemli ayrıcalığı ise kantitatif analiz yapan flow cytometry tekniğine dönüştürülebilmesidir. Flow cytometry, en sade tanımı ile iki renkli immünfloresan tekniğin gelişmiş modelidir. Floresan mikroskopta hücre yüzey antijenlerini fenotipik olarak belirlemek mümkün olsa bile flow cytometry ile fenotipik analiz daha hızlı (>500 hücre/saniye) ve daha doğru olarak yapılabilmektedir.¹¹⁹ Hastalığa özgü değişim gösteren normal hücre popülasyonlarının belirlenmesi, çok önemli başka bir immünofenotipik uygulamadır. Bu uygulamanın klasik örneği T lenfosit alt gruplarının araştırılmasıdır. Bu hücreler, immün regülasyonda major role sahiptir ve immünolojik bozukluğun bulunduğu birçok hastalıkta kantitatif olarak değişirler (otoimmün hastalıklar, kazanılmış ve kalıtsal immün yetmezlik hastalıkları, organ transplantasyonları vs). Lenfosit alt gruplarındaki oynamalarla hastalık süreci arasındaki ilişki birçok kişide iyi anlaşılmasa da immünfenotipleme bu hastalıkların tedavisinde yol gösterici olmaktadır.¹²⁰ Yüzey antijenlerini tayin etmek için çeşitli immünolojik teknikler ve probalar kullanılmıştır. İlk “prob”, koyun eritrositidir. Bu fenomenin keşfinden beri “koyun kan hücrelerinin rozet yapması” veya “E rozet deneyi”, T lenfositlerinin sayılmasında primer metot olmuştur. Daha sonra heteroantisera ve immünfloresanın kullanılması, çok sayıda yüzey antijeninin tayin

edilmesini sağlamıştır ve böylece immünolojide modern teşhis çağı başlamıştır. Fakat heteroantiserayı büyük miktarda elde etme zorluğu, zaman kaybı, immünfloresan mikroskopta subjektif kararlar verilmesi bu tekniğin geniş olarak kullanılmasını sınırlamıştır.¹²⁰ Bu alanda teknik ilerlemeler hızla artmaktadır. Örneğin Horan ve ark. tarafından bildirilen standart dual floresan tekniğin son modifikasyonu, kullanılan herbir kromofor için lökositlerin iki alt grubunun aynı anda tayin edilebilmesine izin vermektedir. Böylece iki renkli floresan ve tek bir laser kullanarak aynı örnekte 5 hücre alt grubu tayini yapılabilmektedir. Yani aynı kan örneğinde T- helper, T- sitotoksik, B hücreler, monositler ve NK hücrelerin aynı anda miktar tayini yapılabilmektedir.¹²⁰ İmmünfenotipleme yapmak için hücreler florokromla işaretli monoklonal antikorlarla işaretlenir, bu işaretli hücreler flow cytometry' den geçirilir ve pozitif hücrelerin sayı ve yüzdesi ölçülür. Çoğu vakalarda çalışılacak hücre popülasyonunun tam olarak sınıflandırılabilmesi için monoklonal antikor paneli gerekmektedir. İki monoklonal antikor karışımının kullanıldığı “ dual boyama veya dual renkli boyama” tekniğinde monoklonal antikorlar farklı emisyon spektrumlarına sahip ancak ortak bir dalga boyunda eksite olan iki florokrom ile işaretlenirler. Floresan ile kombine edilen boyalar; fikoeritrin, Rodamin veya Texas kırmızısı olabilir. Dual boyama ile T hücre alt gruplarının analizi hızlı yarı otomatik ve aynı anda yapılabilmektedir. Flow cytometry, lenfosit alt gruplarını tayin etmek için en yaygın kullanılan metottur, fakat birçok teknik faktör lenfosit alt gruplarının değerlendirilmesini etkilemektedir. Bu faktörler arasında antioagülanlar, malzemenin saklanma derecesi ve süresi, boyanma kalitesi, fiksasyon ve kriyoprezervasyon sayılabilir.¹²¹ Sensitivite ve spesifisite oranlarının artırılması bu koşulların standardize edilmesine bağlıdır.

Çalışmamızda klinik veriler, Silness-Löe'nin plak ve Löe-Silness'in kanama indeksleri aracılığı ile elde edildi. Bu indeksler periodontal sağlık ve oral sağlık durumu hakkında en güvenilir sonuçları vermeleri açısından daha önce yapılan bir çok çalışmada kullanılan indeksler olup, çalışmamızda da tercih edildi. Bunlara ek olarak araştırma grubumuzu oluşturan bireylerin puberta döneminde olmaları ve bu dönemde oluşan gingivitisin marginal papil kısmında görülmesi nedeniyle papil kısmının durumunu belirlemek amacıyla Mühleman'ın papil kanama indeksi tercih edildi. Ayrıca çalışmamız sondalanabilir cep derinliği, mobilite derecesi ve periapikal radyografilerle desteklenerek kapsamlı olarak değerlendirilmeye çalışıldı.

Bu indeksler kullanılarak yapılan çalışmalarda hastalıklı grupta tespit edilen plak değerleri sağlıklılardan yüksek bulunmuştur.¹²² Keza çalışmamızda da puberta gingivitis tanısı konan grubun plak indeks değerleri, puberta gingivitis tanısı konmayan gruptan daha fazla bulundu. Periodontal hastalıklarda primer etken bakteri plağı, bakteri plağının patojenitesi üzerinde primer neden ise yetersiz oral hijyendir. Periodontal hastalıklarda etkin tedavi için oral hijyen eğitimi yanı sıra bakteri plağı ve diştaşlarının ortamdan uzaklaştırılması gereklidir. Yaptığımız çalışmada da gingivitisli grupta yürütülen konvansiyonel tedaviye bağlı olarak başlangıca göre plak indeks değerlerinde önemli düşüşler tespit edildi. Daha önce yapılan bir çalışmada da plak skorları ile periodontal hastalık arasında pozitif bir korelasyon mevcudiyetinden bahsedilmiştir.¹²³

Plak indeksinin dişeti kanama indeksi ile doğru orantılı olduğu vurgulanmıştır.¹²⁴ Yapılan farklı çalışmalarda gerek dişeti kanama indeksinin, gerekse papil kanama indeksinin hastalıklı dişeti dokularında yüksek oranda olduğu

rapor edilmiştir.^{125,126} Keza araştırmamızın gingivitisli puberta grubunda, hem dişeti kanama indeksi, hemde papil kanama indeksi yüksek oranda bulundu.

Gingivitisli puberta grubunda dişeti iltihabı tedavisine yönelik yapılan plak eliminasyonu işlemleri sonucu iyileşmelerin olduğu görüldü. Basit bir scaling ve rootplaning'den bir hafta sonra plak ve ginigival indeks değerlerinde önemli derecede bir azalmanın olduğu rapor edilmiştir.^{127,128} İlerlemiş periodontal hastalıklarda yapılan bir çalışmada plak skorlarındaki değişikliğin kanama skorlarına 3 ay sonra yansıdığı bildirilmiştir.¹²⁹ Başka bir çalışmada ise bu süre marjinal kanamaya etki olarak 6 hafta olarak belirtilmiştir.¹³⁰

Periodontal hastalıklarda immün yanıtın lokal olduğu rapor edilmiş¹³¹ ve immün yanıtın regulasyonunda CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositlerin kritik elementler olarak görev yaptığı vurgulanmıştır.¹⁰⁵ Orta şiddetli gingivitiste T hücrelerinin predominant, yıkıcı periodontal hastalıklarda B lenfositler baskın olduğu bildirilmiş CD4⁺ T lenfositlerin B hücre aktivasyonunu arttırdığı, CD8⁺ T lenfositlerin B hücre cevabını azalttığı belirtilmiştir.^{70,74,132,133} Seymour ve arkadaşlarının yaptığı immünohistokimyasal çalışmalarda da hastalık alanlarında göze çarpan T hücre infiltratının konak cevabında bir anahtar özelliği taşıdığı ve bu hücrelerin periodontal enfeksiyona karşı lokal immün yanıtta önemli bir rol oynadığını savunulmuştur.¹³⁴ Hızlı ilerleyen periodontitis hastalarında T lenfosit değerlerinin sağlıklı grupla karşılaştırıldığı çalışmalarda, hastalıklı grupta CD8⁺ T lenfosit hücreleri daha düşük oranda olduğu^{78,135,136} ve CD4⁺ T lenfosit oranında önemli bir fark gözlenmediği bulunmuştur.¹³⁵ Kronik periodontitis hastalarının periferik kan bulgularının kontrol grubuna mukayesesinde ise nisbeten yüksek oranda CD4⁺ ve CD8⁺ oranları tespit edilmiştir.¹³⁷ Nitekim bizim çalışmada da , gingivitisli puberta

grubumuzun tedavi öncesi $CD4^+$ ve $CD8^+$ değerleri, sağlıklı dişetine sahip grubumuzun $CD4^+$ ve $CD8^+$ değerlerinden düşük bulunmuştur.

Hastalıklı ve sağlıklı gruplar arasında NK hücrelere yönelik yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Sigushi ve ark.¹³⁷ yaptıkları çalışmada NK hücre sayısının periodontitis ve sağlıklı grup arasında benzer olduğunu bildirmişlerdir. Fakat diğer pek çok çalışmada NK aktivitesinin şiddetli periodontal hastalıklarda arttığını vurgulanmıştır.¹³⁸⁻¹⁴¹ Seymour¹⁰⁷ farklı bir açıdan konuya eğilmiş, değişik bir yorum katarak, artan plak birikiminin, NK aktivasyonu artırdığını beyan etmiştir. Çalışmamızda da, gingivitisli puberta grubunun tedavi öncesi $CD16^+56^+$ değerlerinin, sağlıklı kontrol grubu $CD16^+56^+$ değerlerinden rakamsal olarak yüksek bulundu.

Periodontal açıdan sağlıklı ve hastalıklı durumlarda $CD4^+/CD8^+$ değerlerini mukayese eden çalışmalar mevcuttur. Ancak sonuçlar metodlardaki farklılık kadar hastalığın safhalarındaki farklardan dolayıda birbirleriyle çelişkili olabilir. Hastalıklı ve sağlıklı durumlarına göre dişeti $CD4^+/CD8^+$ değerlerini mukayese eden çalışmalarda oranların benzer olduğu bildirilmiştir.⁸ Bir çok araştırmacıda kronik periodontitisli hastalarda $CD4^+/CD8^+$ oranlarını normal sınırlarda bulmuşlardır.^{6,7,9} Ancak bunun aksine, periodontal hastalıklı dokulardan alınan hücrelerde baskılanmış bir $CD4^+/CD8^+$ oranı rapor eden çalışmalarda mevcuttur.^{10,11,142} Başka bir çalışmada hızlı ilerleyen periodontitiste azalan $CD4^+/CD8^+$ oranı bildirilmesine rağmen⁸², aynı metodlu diğer çalışmalarda hızlı ilerleyen periodontitisde $CD4^+/CD8^+$ oranı artmış bir oranda tespit edilmiştir.¹³⁵ Son dönemlerde yapılan çalışmalarda da periodontal açıdan sağlıklı grupta $CD4^+/CD8^+$ oranında yükselmiş nisbi bir değerden

bahsedilmiştir.^{9,136} Günümüze kadar $CD4^+/CD8^+$ değerlerini mukayese eden çalışmaların çoğu periferik kanda yapılmış olmakla birlikte doku çalışmaları son dönemde ağırlık kazanmıştır. Doku ve periferik kan bulgularının mukayesesinde de, iltihaplı doku $CD4^+/CD8^+$ oranının aynı hastaların periferik kan oranlarından daha düşük olduğu belirlenmiştir.^{9,85} Periodontal lezyona sahip dokulardan alınan T hücrelerinin, sağlıklı dokudan alınanla mukayese edildiği çalışmalarda ise, $CD4^+/CD8^+$ oranlarında bir artış bulunmuştur.^{134,143} Mevcut çalışmaların yorumlarına göre, periodontal hastalıklı dokulardaki $CD4^+/CD8^+$ oranındaki değişikliklerin gingivada bulunan aşırı derecede ki antijen ve poliklonal aktivatörlere karşı oluşan lokal konak cevabını regule etmek için ortaya çıkan hemostatik mekanizmalardan kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır.⁹ Lezyonun aktivitesinin $CD4^+/CD8^+$ oranını etkilediği; aktif lezyonda yüksek, kronik lezyonda düşük $CD4^+/CD8^+$ oranı mevcut olduğu rapor edilmiştir.⁸¹ Seymour ve ark¹⁴⁴'nın. deneysel gingivitis modeli üzerinde yaptıkları çalışmada da, T hücre lezyonunun immünoregülatör kontrolü ön plana alınmış, inflamatuvar lezyonun perivasküler bir infiltrat olarak geliştiği vurgulanmıştır. Bu çalışmada da gingivitis gelişimine paralel olarak, $CD4^+/CD8^+$ oranlarının 21 gün üzerine değiştiği görülmüştür; ilk gün 2:1 olan oranın ilerleyen günlerde düştüğü tespit edilmiştir.¹⁴⁴ Benzer bir çalışmada da çocuklarda gingivitis durumlarında bu oranın 2:1 olduğunu bildirmiştir.¹⁰⁹ Hastalıklı lezyonlardan alınan dokular üzerinde yapılan çalışmalarda genelde $CD4^+/CD8^+$ oranlarının baskılandığını ileri sürmüştür.^{9,10} Ancak romatoid artrit gibi bazı hastalıklarda $CD4^+/CD8^+$ oranının (9:1 e kadar) yükselebileceği bildirilmiştir.³³ Çalışmamızda da gingivitisli

puberta grubunun hastalıklı dokularından alınan biyopsilerinden, tedavi öncesi elde edilen $CD4^+/CD8^+$ değerleri sağlıklı gruba göre daha düşük bulundu.

Tedavi sonrasında $CD4^+/CD8^+$ değerlerinde hastalıklı grupla benzer oranlar bulunmuştur.⁸⁵ Periodontal hastalık esnasında $CD4^+$ T lenfositlerin oranının düştüğü, $CD8^+$ T lenfositlerin oranları arttığı, $CD4^+/CD8^+$ oranı ise düştüğü tedaviden sonra ise $CD4^+$ arttığı, $CD8^+$ azaldığı, $CD4/CD8$ oranının ise arttığı rapor edilmiştir.¹⁴⁵

Çalışmamızda $CD4/CD8$ oranında tedavi sonrasında bir azalma gözlemlendi. $CD4^+$ ve $CD8^+$ oranlarında ise anlamlı ölçüde bir artış vardı, bu artışa rağmen $CD4^+/CD8^+$ oranındaki azalma $CD8^+$ oranında artışın fazlalığına bağlandı. NK oranında ise önemli bir fark yoktu. Bizim sonuçlarımıza benzer olarak; Stoufi ve ark rapor ettiği gibi tedavi sonrası $CD4^+/CD8^+$ oranındaki azalma vardır ve bu azalma $CD8^+$ T lenfositlerindeki cüzi artış nedeniyledir.¹⁴⁶ Düşük $CD4^+$ oranı tedaviden sonra normal değerlere döner.¹⁴⁷ Tedavi sonrası biopsi alınarak yapılan karşılaştırmalarda oranlar normal sınırlarda bulunmuştur.⁷⁸ Çalışmamızda $CD4^+/CD8^+$ oranında tedavi sonrasında bir azalma gözlemlendi. $CD4^+$ ve $CD8^+$ oranlarında ise anlamlı ölçüde bir artış vardı, bu artışa rağmen $CD4^+/CD8^+$ oranındaki azalma $CD8^+$ oranında artışın fazlalığına bağlandı. NK oranında ise önemli bir fark yoktu.

Hormonların, dişeti iltihapları ile ilişkisi hakkında yapılan çalışmalarda ise, farklı görüşler bildirilmekle birlikte, günümüzde varılan ortak görüş, hormonların dişeti hastalıkları için tek etken olmadığı şeklindedir.¹⁴⁸ Yetersiz oral hijyen durumunda, artan sex hormonları nedeniyle gingival mast hücrelerinin yıkımı ve histamin ve protolitik enzimlerin salınmasına sebep olunması; lokal irritanlara

karşı abartılı bir inflamatuvar cevabın oluşmasına katkıda bulunabilir yorumu yapılmıştır.¹⁴⁸ Temel anlamda puberta döneminde görülen gingivitis puberta döneminde olmayan bireylerde olduğu gibi bakteri plağı nedeniyle oluşur.¹⁴⁸ Yapılan farklı çalışmalarda da pubertal olgunlaşmadan plak ve gingival indeksin önemli derecede etkilenmedi belirtilmiştir.¹⁴⁹

Başka bir çalışmada da sex hormonları ile klinik parametreler arasında ilişki olduğu ileri sürülmüştür.⁶⁶ Çalışmamızda da, istatistiksel olarak puberta gingivitisli bireylerle sağlıklı bireyler E₂ , FT, TT değerleri, arasında anlamlı bir fark göstermemiştir.

SONUÇLAR

1. Puberta dönemindeki bütün bireylerde mutlak dişeti hastalığı gelişecektir diye bir şart yoktur. Hastalık hali dengenin virulans faktörler lehine döndüğü bireylerde meydana gelir.
2. Puberta gingivitisli bireylerin oral hijyen durumu, puberta döneminde bulunan sağlıklı bireylere göre daha kötüdür.
3. Puberta gingivitisli bireylere konvansiyonel tedavi yapıp iyi bir oral hijyen eğitimi verildikten sonra hastalığın klinik bulguları kaybolmakta ve klinik indeks değerleri düşmektedir.
4. Puberta gingivitisli hasta grubunda tedavi öncesi $CD16^+$ 56^+ değerleri dişeti sağlıklı olan grubun $CD16^+$ 56^+ değerlerinden daha yüksek bulundu.
5. $CD4^+$ ve $CD8^+$ lenfositler pubertal gingivitisin pathobiolojisinde önemli rol oynadığı belirlendi.
6. Puberta gingivitisli hasta grubunda tedavi öncesi immünregülasyonu belirleyen $CD4^+/CD8^+$ indeks değerleri, dişeti sağlıklı olan grubun $CD4^+/CD8^+$ değerlerinden daha yüksek bulundu.
7. Puberta gingivitisli hasta grubunda convansiyonel tedavi ile $CD4^+$, $CD8^+$ değerleri ve $CD4^+/CD8^+$ oranı düşüş gösterdi ve dişeti sağlıklı olan kontrol grubunun değerlerine yaklaştı.
8. Dişeti sağlığı üzerine oral hijyenin durumu, steroid hormonların artmasından daha etkili bulundu.

KAYNAKLAR

1. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology* 2000 2001; 25: 8-20.
2. Taichman N, Lindhe J. Pathogenesis of plaque-associated periodontal disease. In: Lindhe J.(ed). *Textbook of Clinical Periodontology*. 2nd ed. Munsgaard. Copenhagen. 1992:153-190.
3. Page R, Schroeder H. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*. 1976; 33: 235-249.
4. Zadeh HH, Nicols FC. The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis. *Periodontol* 2000 1999; 20: 239-288.
5. Seymour G, Powell R, Cole K, Aitken J, Brooks D, Beckham I, Zola H, Bradley J, Burns G. Experimental gingivitis in human. A histochemical and immunological characterization of the lymphoid cell subpopulations. *J Periodont Res*. 1983; 18: 375-385.
6. Okada H, Kassai Y, Kida T. T lymphocyte subsets in the inflamed gingiva of human adult periodontitis. *J Periodont Res* 1984; 19: 595-598.
7. Stashenko P, Resmini LM, Haffajee AD, Socransky SS. Helper and suppressor T cells in periodontal disease. *J Periodont Res* 1985; 20: 515-521.
8. Meng HX, Zheng LF. T cells and T-cell subsets in periodontal disease. *J Periodont Res* 1989; 24: 121-124.
9. Taubman MA, Stoufi ED, Ebersole JL, Smith DJ. Phenotypic studies of cells from periodontal disease tissue. *J Periodont Res* 1984; 19: 587-590.

10. Cole KL, Seymour GJ, Powell RN. The autologous mixed lymphocyte reaction (AMLR) using periodontal lymphocytes. *J Dent Res* 1986; 65: 473-477.
11. Johannessen AC, Nilsen R, Knudsen GE, Kristofferson T. In situ characterization of mononuclear cells in human chronic marginal periodontitis using monoclonal antibodies. *J Periodont Res* 1986; 21: 113-127.
12. Itoiz MA, Carranza FA, Ubioz AM. Carranza FA. The normal periodontium. In: Carranza FA, Newman MG (eds). *Clinical Periodontology*. 8th ed. WB Saunders Co, Philadelphia, London, Toronto, Mantreal, Syndney, Tokyo. 1996: 11-55.
13. Carranza FA, Rapley JW. Periodontal pathology. In: Carranza FA, Newman MG (eds). *Clinical Periodontology*. 8th ed. WB Saunders Co. London, Toronto, Mantreal, Syndney, Tokyo. 1996: 217-342.
14. Grant DA, Stern IB, Listgarten MA. *Periodontics*. 6th ed. St. Louis, CV Mosby, 1988
15. Suzuki J. Diagnosis and classification of periodontal diseases. *Dent Clin North Am* 1988; 32: 195-216.
16. World Workshop in Clinical Periodontics. Report of section on periodontal diagnosis and diagnostic aids. Princeton, NJ, 1989; 23-27.
17. Genco RJ. Classification and clinical and radiographic features of periodontal disease. In Genco RJ, Goldman HM, Cohen DW. *Contemporary Periodontics*. St. Louis, CV Mosby, 1990; 170-185.
18. Ranney RR. Classification of periodontal disease. *Periodontology* 2000. 1993; 2:13-17.
19. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999; 4:1-7.

20. Løe H, Theilade E, Jensen S. Experimental Gingivitis in Man. *J. Periodontol* 1965; 36:177-187.
21. Van der Weijden GA, Timmerman MF, Danser NM, Nijboer A, Saxton CA, Van der Welden U. Effect of pre-experimental maintenance care duration on the development of gingivitis in a partial mouth experimental gingivitis model. *J Periodont Res.* 1994; 29: 168-173.
- 22- Dechavanne PA. Gencive et puberte. *L'information Dentaire* 1988;18: 1567-1574.
23. Kinane DF, Lindhe J. Pathogenesis of periodontal disease. In: Lindhe J, ed. *Textbook of Periodontology*. Copenhagen: Munksgaard, 1997; 153-193.
24. Payne W, Rafe R, Ogilvie A, Hall W. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. *J Periodont Res.* 1975; 10: 51-64.
25. Zachrisson B. A histological study of experimental gingivitis in man. *J Periodont Res.* 1968; 3: 293-298.
26. Schroeder H, Graft-de-Beer M, Attström R. Initial gingivitis in dogs. *J Periodont Res.* 1975;110:128
27. Brex M, Gautchi M, Gehr P, Lang N. Variability of histologic criteria in clinically healthy human gingiva. *J Periodont Res.* 1987; 22: 468-472.
28. Schroeder H, Munzel-Pedrassoli S, Page R. Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissues in early chronic gingivitis in man. *Arch Oral Biol.* 1973;18: 899-923
29. Seymour G, Powell R, Aitken KJ. Experimental gingivitis in human. A clinical and histologic investigation. *J Periodontol.* 1983; 54: 522-531.
30. Brex M, Frölicher I, Gehr P, Lang NP. Stereological observations on long term experimental gingivitis in man. *J Clin Periodontol.* 1988; 15: 621-627

31. Lindhe J, Liljenberg B, Listgarten M. Some microbiological features of periodontal disease in man. *J Periodontol* 1980; 51: 264-269.
32. Listgarten M, Hellden L. Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. *J Clin Periodontol* 1978; 5: 115-132.
33. Okada H, Kida T, Yamagami H. Identification and distribution of immunocompetent cells in inflamed gingiva of human chronic periodontitis. *Infect Immun.* 1983; 41: 172-179.
34. Seymour G, Greenspan J. The Phenotypic characterization of lymphocyte subpopulations in established human periodontal disease. *J Periodont Res.* 1979; 14: 39-44
35. Seymour G, Powell R, Davies W. Conversion of a stable T-cell lesion to a progressive B cell lesion in the pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: an hypothesis. *J Clin Periodontol* 1979; 6: 267-275.
36. Müller-Glauser W, Schroeder H. The pocket epithelium. A light and electron microscopic study. *J Periodontol* 1982; 53 : 133-144.
37. Page RC. Gingivitis. *J Clin Periodontol.* 1986; 13: 345-355.
38. Gillett R, Cruchley A, Johnson NW. The nature of the inflammatory infiltrates in childhood gingivitis, juvenile periodontitis: immunocytochemical studies using a monoclonal antibody to HLA Dr. *J Clin Periodontol.* 1986; 13: 281-288.
39. Matsson L, Goldberg P. Gingival Inflammatory reaction in children at different ages. *J Clin Periodontol* 1985; 12: 98-103.
40. Matsson L: Development of gingivitis in pre-school children and young adults. A experimental study. *J Clin Periodontol* 1978; 5: 24-34.

41. Longhurst P, Johnson NW, Hopps RS. Differences in lymphocyte and plasma cell densities in inflamed gingiva from adults and young children. *J Periodontol* 1977; 48: 705-710.
42. Mouton CH, Hammond PG, Slots J, Genco RJ. Serum antibodies to oral *Bacteroides asaccharolyticus* (*Bacteroides gingivalis*): Relationship to age and periodontal disease. *Infect Immun* 1981; 31: 182-189.
43. Sutcliffe P. A longitudinal study of gingivitis and puberty. *J Periodont Res.* 1972; 7:52-58
44. Mariotti A. Dental plaque-induced gingival disease. *Ann Periodontol.* 1999; 4: 1: 7-17
45. Tiainen L, Asikainen S, Saxen L. Puberty-associated gingivitis. *Community Dent Oral Epidemiol* 1992; 20: 87-89.
46. Kinik E, Karaman O, Buyukgebiz A. Determination of various parameters of sexual maturity in adolescent boys in Ankara. *Turk.J.Pediatr.* 1987; 29 :217 –226.
47. Koç A, Karaoglanoglu M, Erdogan M, Kösecik M, Cesur Y. Assessment of bone ages: is the Greulich-Pyle method sufficient for Turkish boys?. *Pediatrics International* 2001; 43: 662-665
48. Tanner JM. The development of the reproductive system. In: Tanner JM. *Growth at adolescence* 2nd ed, Oxford: Blackwell Scientific Publications 1962; 28-29.
49. Delaney J, Ratzan SK, Kornman KS. Subgingival microbiota associated with puberty: Studies of pre-, circum-, post-pubertal human females. *Pediatric Dent .* 1986; 8 : 268-275.

50. Mombelli A, Gusterbi FA, Van Osten MAC, Lang NP. Gingival health and gingivitis development during puberty. A 4-year longitudinal study. *J Clin Periodontol.* 1989; 16: 451-456.
51. Klapisz-Walikow M, Lejeune P. Occurance of periodontal disease in children. *Rev Orthop-Dento Fac.* 1981; 15: 415-428.
52. Bimstein E, Matsson L. Growth and development considerations in the diagnosis of gingivitis and periodontitis in children. *Rev. Pediatr Dent.* 1999; 21:3: 186-191.
53. Hugoson A, Koch G, Rylander H. Prevalence and distribution of gingivitis-periodontitis in children data as a base for risk group selection .*Swed Dent J.* 1981; 5: 91-103.
54. Ramberg PW, Lindhe J, Gaffar A: Plaque and gingivitis in the deciduous and permanent dentition. *J Clin Periodontol* 1994; 21: 490-96.
55. Stamm JW. Epidemiology of gingivitis. *J Clin Periodontol.* 1986; 13: 360-366.
56. L  e H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* . 1963; 21: 531-551.
57. Mariotti A. Sex steroid hormones and cell dynamics in the periodontium. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1994; 5: 27-33.
58. Glickman I.(ed) *Clinical Periodontology.* 4th ed.Paris France. 1972
59. Chairay JP.The periodontium and orthodontics in growing patient. *Orthod F.* 1984; 55: 234-245.
60. Mariotti A. Dental plaque-induced gingival disease. *Ann Periodontol.* 1999; 4: 1: 7-17.
61. Marshall NJ.Hormones and their target cells. In: Brook CGS, Hindmarsh PC (eds). *Clinical Pediatric Endocrinology.* 4th ed. Blackwell Science London. 2001:1-16.

62. Wheeler MJ, Hormone assay In: Brook CGS, Hindmarsh PC (eds). Clinical Pediatric Endocrinology. 4th ed. Blackwell Science. London. 2001:27-36.
63. Styne DM. The physiology of puberty. In: Brook CGS, Hindmarsh PC (eds). Clinical Pediatric Endocrinology. 4th ed. Blackwell Science. London. 2001:140-164.
64. Amar S, Chung KM. Influence of hormonal variation on the periodontium in women. Periodontol 2000 1994; 6: 79-87.
65. Machuca G, Khoshfeiz O, Lacalle JR, et al. The influence of general health and socio-cultural variables on the periodontal condition of pregnant woman. J Periodontol.1999; 70: 779-785.
66. Nakagawa S, Fujii H, Machida Y, Okuda K. Longitudinal study from prepuberty to puberty of gingivitis. Correlation between the occurrence of *Prevotella intermedia* and sex hormones. J Clin Periodontol. 1994; 21: 658-665.
67. Bimstein E, Matsson L, Soskolne AW, Lutsman J. Histologic characteristics of the gingiva associated with the primary and permanent teeth of children. Pediatr Dent. 1994; 16: 206-210.
68. Berglundh T, Liljenberg B, Ericson I, Lindhe J. Gingivitis in the deciduous and permanent dentition. An experimental study in the dog. J Clin Periodontol 1989; 16: 457-466.
69. Seymour GJ, Greaves MF. Identification of cells expressing T and p28,33(Ia-like) antigens in sections of human chronic inflammatory periodontal disease. J Periodont Res. 1980; 15: 453-461.

70. Mackler BF, Frostad KB, Robertson FB, Levy BM. Immunoglobulin bearing lymphocytes and plasma cells in human periodontal disease. *J Periodont Res*. 1977;12: 37-45.
71. Seymour GJ, Grouch MS, Powell RN. The phenotypic characterization of lymphoid cell subpopulations in gingivitis in children. *J Periodont Res* 1981; 16:582-292.
- 72- Seymour GJ, Grouch MS, Powell RN, Brooks D, Beckman I, Zola N, Bradley J, Bruns GF. The identification of lymphoid cell subpopulations in sections of human lymphoid tissue and gingivitis in children using monoclonal antibodies. *J Periodont Res*. 1982; 17: 247-256.
73. Daly CG, Clancy RL, Cripps AW. Lymphocytes from chronically inflamed human gingiva. I. Cell recovery and characterization in vitro. *J Periodont Res*. 1983; 18: 67-74.
74. Seymour GJ, Cole KL, Powell RN. Analysis of lymphocyte populations extracted from chronically inflamed human periodontal tissues. I. Identification. *J Periodontal Res*. 1985; 20: 47-57.
75. Özbal B. (ed). Temel İmmünoloji. 1. Baskı. Tayf Ofset İst. 1994; 9-39.
76. Güven O. (ed). Ağız hastalıkları ve çene cerrahisinde immünoloji. 2. baskı. Ankara Üniversitesi Basımevi. 1995; 15-105.
77. Yamazaki K, Nakajima T, Aoyagi T, Hara K. Immunohistological analysis of memory T lymphocytes in tissues with periodontal disease. *J Periodont Res* 1993; 28: 324-334.
78. Çelengil H, Kansu E, Eratay K. Juvenil end rapidly progressive periodontitis. Peripheral blood lymphocyte populations. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 207-210.

79. Çelengil H, Kansu E, Ruacan Ş, Eratalay K Papillon Lefevre syndrome.Characterization of peripheral blood and gingival lymphocytes with monoclonal antibodies. J Clin periodontol 1992; 19: 392-397.
80. Takahashi K, Nagai A, Satoh N, Kurihara H, Murayama Y. Studies on the phenotypic and functional characterization of peripheral blood lymphoctes from patients with early onset periodontitis. J Periodontol 1995; 66: 391-396.
81. Zafiroopoulos G GK, Flores-de-Jacoby L, Schoop B, Havemann K, Heymanno J. Flow-cytometric analysis of lymphocyte subsets in paients with advanced periodontits. J Clin Peiodontol 1990; 17: 636-641.
82. Kinane DF, Johnson FA, Evans CW. Depressed helper-to-suppressor T-cell rations in early-onset forms of periodontal disease. J Periodont Res 1989; 24: 161-164.
83. Afar B. Engel D, Clark EA. Activated lymphocyte subsets in adult periodontitis J Periodont Res 1992; 22: 126-133.
84. Takahashi K, Takigawa M, Hara H. Clinical an laboratory studies on a patient with early onset periodontitis and her family member. A case report. J Periodontol 1995; 66: 403-412.
85. Cole KL, Seymour GJ, Powell RN. Phenotypic and functional analysis of T cell extracted from chronically inflamed human peridontal disease. J Periodontol 1987; 58: 567-573.
86. Syrjänen S, Markhanen H, Syrjänen K. Inflammatory cells and their subsets in lesions of juvenile periodontits. Acta Odontol Scand 1984; 42: 285-292.
87. Çelengil H, Kansu E, Eratalay K, Yavuzylmaz E. Prepubertal periodontitis. A case report with an analysis of lymphocyte populations. J Clin Periodontol 1987; 14: 85-88.

88. Silness J, L  e H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation of between oral hygiene and periodontal condition. Acta Odontol Scand. 1964; 22: 121-135.
89. Mühleman, HR., Son S. Gingival sulcus bleeding –A leading symptom in initial gingivitis. Helv. Odont. Acta 1971;15: 107-112.
90. Schulte W, Lukas D. The periost test method. Int Dent J. 1992; 42: 433-440.
91. Roger SR, Edwin JM. Flow cytometry clinical applications Washington ASCP National Meeting Fall, 1989; 3-15.
92. Bowden BD. Epiphyseal changes in hand/wrist area as indicate of adolescent stage. Aust Orthod J 1986; 4: 87-104.
93. Groulich WW, Pyle SI. Radiographic atlas of skeletal development of hand and wrist, Stanford: Stanford Univ Press. 1955
94. Fishman LS. Radiographic evaluation of skeletal maturation. A clinically oriented method based on hand-wrist films. Angle Orthod. 1982; 52: 88-112.
95. Fishman LS. Maturation patterns and prediction during adolescence. Angle Orthodont 1987; 57: 178-93.
96. Baboolal R, Milner A, Powell RN. A study of the effects of gingival plaque extracts on cell cultured *in vivo*. J Periodont Res 1970; 5: 248-254.
97. Levine M, Adams RL, Cowley GC. Effect of dental plaque extracts on mammalian cells *in vitro* J Periodont Res 1973; 8:296-303.
98. Schroeder HE, Page R. Lymphocyte-fibroblast interaction in the pathogenesis of inflammatory gingival disease. J Periodontol 1972;28: 1228-1230.
99. Seymour GJ, Powell RN, Davies WI. The immunopathogenesis of progressive chronic inflammatory periodontal disease. J Oral Pathol 1979; 8: 249-265.

100. Simpson DM, Avery BE. Pathologically altered fibroblasts within lymphoid cell infiltrates in early gingivitis. *J Dent Res* 1973; 52: 1156.
101. Papapanou PN, Baelum V, Luan WM, Madianos PN, Chen X, Fejerskov O et al. Subgingival microbiota in adult Chinese: prevalence and relation to periodontal disease progression. *J Periodontol* 1997; 68: 651-66.
102. Prabhu A, Michalowicz BS, Mathur A. Detection of local and systemic cytokines in adult periodontitis. *J Periodontol* 1996; 67: 515-22.
103. Roitt M, Lenher T, Polson A. Immunologie de la meladie paradoentale. In: Roitt IV, Lehner T, eds. *Immunologie des meladies de la bouche*. Paris: Sinep Editores; 1987; 43-60.
104. Hirsch HZ, Tarkowski A, Miller EJ, Gay S, Koopman WJ, Mestecky J. Autoimmunity to collagen in adult peridontal disease. *J Oral Pathol Med* 1988; 17: 456-459.
105. Reinherz EL, Schlossman SF. Regulation of the immune response inducer and supressor T-lymphocyte subsets in human beings. *N Engl J Med* 1980;303: 370-373.
106. Kopp W. Density and localization of lymphocytes with Natural Killer cell activity in periodontal biopsy specimens from patients with severe periodontitis. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 595-600.
107. Seymoyr GJ, Horwood BW, Aaskov J, Powell RN. Natural killer(NK) cell activity aganist human gingival fibroblats exposed to dental plaque extracts. *J Periodontol* 1984; 55: 289-293.
108. Taubman MA, Stoufi ED, Seymour GJ, Smith DJ, Ebersole JL. Immunoregulatory aspects of periodontal disease. *Adv Dent Res* 1988;2: 328-333.

109. Walsh LJ, Armitt KL, Seymour GJ, Powell RN. The immunology of chronic gingivitis in children *Pediatr Dent*. 1987; 9: 26-32.
110. Anusaksathien O, Dolby AE. Autoimmunity in periodontal disease. *J Oral Pathol Med* 1991; 20: 101-107.
111. Vitaya S, Furio P, sen-Lian Y, Atef M, Maureen R, Leslie JD Decreased levels of helper T cells *The new england journal of medicine* 1982; 307: 352-356.
112. O'Neil T.C.A Maternal T-lymphocyte response and gingivitis in pregnancy *J Periodontol* 1979; 50: 178-184.
113. Genco J. Treatment of localised juvenile periodontitis. 59 th.Am.Med.I.A.P.R. Chicago Abstr.872. 1981
114. Komman KS, Loesche WJ. Effects of oestradiol and progesteron on *bacteroides melainogenicus* and *bacteoides gingivalis*. *Infect Immun* 1982;35: 256-263.
115. Biswas S, Duperon DF, Chebib FS. Study of periodontal disease in children and young adolescents.I effect of age, sex and gingival inflammation on crevice fluid volume, pocket depth, PH of supragingival plaque and crecive, collagenase activity and urea. *J Periodont Res* 1977; 12: 250-264.
116. Lindhe J,Attstrom R, Bjorn AL. Influence of sex hormones on gingival exudation in gingivitis free female dogs. *J Peridont Res*. 1968; 3: 273-278.
117. Hunter CJ. The correlation of facial growth with body height skeletal maturation at adolescence. *Angle Orthod*. 1966; 36: 44-54.
118. Björk A, Helm S. Prediction of the age of maximum puberal growth in body height. *Angle Orthod*. 1967; 37: 134-143.
119. Janossy G, Amlot P. Immunfluorescence and immunohistochemistry. In Klaus GGB: *Lymphocytes, a practical approach*.IRL Press Ltd. Oxford. 1987; 67-108.

120. Riley RS, Mahin EJ. Analysis of cell surface antigens. In clinical applications of flow cytometry. ASCP National Meeting. Washington. 1989; 22-62.
121. Romeu MA, Mestre M, Gonzalez L, Valls A, Verdaguer J, Corominas M, Bas J, Massip E, Buendia E. Lymphocyte immunophenotyping by flow cytometry in normal adults: Comparison of fresh whole blood lysis technique, Ficoll-Paque separation and cryopreservation. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 154: 7-10.
122. Badersten A, Nilveus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. I. Moderately advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1981; 8: 57-62.
123. Mann J, Cormier PP, Green P. Loss of periodontal attachment in adolescents. *Comm Dent Oral epidemiol*. 1981; 9: 135-141.
124. Abbas F, Van der Velden U, Hart AAM, Moorer WR, Wroom TM, Scholte G. Bleeding/Plaque ratio and the development of gingival inflammation. *J Clin Periodontol* 1986; 13: 774-782.
125. Engelberger T, Hefti A, Kallenberger A, Rateitscak KH. Correlations among papilla bleeding indeks, other clinical indices and histologically determined inflammation of gingival papilla. *J Clin Periodontol* 1993; 10: 579-589.
126. Saxer U, Muhleman H. Motivation and education. *SSO Schweiz Monatsshr Zahnheilkd*. 1975; 85: 905-919.
127. Proye M, Caton J, Polson A. Initial healing periodontal pockets after a single episode of root planing monitoring by controlled probing forces. *J Periodontol* 1982; 53: 296-301.

128. Evans RI, Mikulecky M, Seymour GJ. Effect of initial treatment of chronic inflammatory periodontal disease in adults on spontaneous peripheral blood lymphocyte proliferation. *J Clin periodontol* 1989; 16:271-277.
129. Van der Weijden GA, Timmerman MF, Reijerse E, Snoek CM. Comparison of electric toothbrushes in plaque removing ability. Professional and supervised brushing. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 648-652.
130. Christov V, Timmerman M, Vandervelden V. Interdental oral hygien. *J Periodontol* 1998; 69: 759-764.
131. Seymour GJ, Boyatzis S, Powell RN. The autogenous mixed lymphocyte reaction (AMLR) as a possible indicator of immunoregulation in chronic inflammatory periodontal disease. *Journal of Clin Periodontol* 1986; 13: 639-645.
132. Mackler BF, Waldrop TC, Schur P, Robertson PB, Bevy BM. IgG subclasses in human periodontal disease I. Distribution and incidence of IgG subclass bearing lymphocytes and plasma cells. *J Periodont Res* 1977;13: 109-119.
133. Seymour GJ, Cole KL, Powell RN. Analysis of lymphocyte populations extracted from clinically inflamed human periodontal tissues II. Blastogenic response. *J Periodont Res* 1985; 20: 571-579.
134. Seymour GJ, Gemmell E, Reinhardt RA, Eastcott J, Taubman MA. Immunopathogenesis of chronic inflammatory periodontal-disease-cellular and molecular mechanisms. *J Periodont Res* 1993; 28: 478-486.
135. Nagasawa T, Nitta H, Watanabe H, Ishikawa I. Reduced CD8+ peripheral blood T lymphocytes in rapidly progressive periodontitis *Archs oral Biol* 1995; 40: 605-608.

136. Katz J, Goultschin J, Benoliel R, Schlesinger M. Peripheral T lymphocyte subsets in rapidly progressive periodontitis. *J Clin Periodont*. 1988; 15: 266-268
137. Sigusch B, Klinger G, Glockmann E, Simon HU. Early-Onset and adult periodontitis associated with abnormal cytokine production by activated T lymphocytes. *J Periodontol*. 1998; 60: 1098-1104.
138. Tsoumis CSG, Dolby AE. Human antibody-dependent cellular cytotoxicity and natural killer cytotoxicity in periodontal disease. A preliminary report. *J Periodont Res* 1985; 20: 122-130.
139. Wynne SE, Walsh LJ, Seymour GJ, Powell RN. *In situ* demonstration of natural killer (NK) cells in human gingival tissue. *J Periodontol* 1986; 56: 699-702.
140. Cobb CM, Singla O, Feil PH, Theisen FC, Schultz RE. Comparison of NK-cell (Leu-7—and Leu-11+) populations in clinical healthy gingiva, chronic gingivitis, and chronic adult periodontitis. *J Periodont Res* 1989; 24; 1-7.
141. Afar B, Engel D, Clark EA. Activated lymphocyte subsets in adult periodontitis. *J Periodont Res* 1992; 27: 126-133.
142. Stoufi ED, Taubman MA, Ebersole JL. Phenotypic analyses of mononuclear cells recovered from health and diseased human periodontal tissues. *Journal of Clinical Immunology*. 1987; 7: 235-245.
143. Stoufi ED, Taubman MA, Lundquist CA, Smith DJ, Ebersole JL. A method for studying immunoglobulin synthesis by gingival cells. *Oral Microbial Immunol* 1988; 3: 108-112
144. Seymour GJ, Walsh LJ, Gemmell E. Class II MHC Expression and T-cell subsets in experimental chronic inflammation. *J Dent Res* 1986; 65: 835

145. Manti F, Kornman K, Goldscheiner I. Effects of an immunomodulating agent on peripheral blood lymphocytes and subgingival microflora in ligature-induced periodontitis *Infect and Immun* 1984; 45: 172-179
146. Stoufi ED, Taubman MA. Phenotypic analyses of mononuclear cells recovered from health and diseased human periodontal tissues *J Clin Immun*, 1987; 7: 235-245
147. Kimura S., Fujimoto N., Okada H. Impaired autologous mixed-lymphocyte reaction of peripheral blood lymphocytes in adult periodontitis. *Infect.Immun*, 1991, 59: 4418-4424
148. Carranza FA. Influence of systemic diseases on the periodontium. In: *Clinical Periodontology*. Carranza FA. 8.th ed. EB. Saunders Co London, Toronto, Mantreal, Syndney, Tokyo. 1996: 185-205
149. Lawrence Yanover, Richard P. Ellen A clinical and microbiological examination of gingival disease in parapubescent females. *J Periodontol* 1986;57: 562-567.