

T.C.  
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
PERİODONTOLOĞİ ANABİLİM DALI

**KRONİK PERİODONTİTİS HASTALARINDA CERRAHİSİZ  
PERİODONTAL TEDAVİYE İLAVE ATMOSFERİK BASINÇLI  
SOĞUK PLAZMA KULLANIMININ KLİNİK, BİYOKİMYASAL  
VE MİKROBİYOLOĞİK PARAMETRELER ÜZERİNE  
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ  
**Dr. DİĞDEM KÜÇÜK**

DANIŐMAN  
**Doç. Dr. SERHAT KÖSEOĞLU**

**İZMİR**  
**Mayıs 2017**

T.C.  
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
PERİODONTOLOĞİ ANABİLİM DALI

**KRONİK PERİODONTİTİS HASTALARINDA CERRAHİSİZ  
PERİODONTAL TEDAVİYE İLAVE ATMOSFERİK BASINÇLI  
SOĞUK PLAZMA KULLANIMININ KLİNİK, BİYOKİMYASAL  
VE MİKROBİYOLOĞİK PARAMETRELER ÜZERİNE  
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ  
**Dr. DİĞDEM KÜÇÜK**

DANIŐMAN  
**Doç. Dr. SERHAT KÖSEOĞLU**

Bu tez Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından  
315S274 Proje numarası ile desteklenmiŐtir.

**İZMİR**  
**Mayıs 2017**

TC  
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİ Ğİ FAKÜLTESİ  
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

KRONİK PERİODONTİTİS HASTALARINDA CERRAHİSİZ  
PERİODONTAL TEDAVİYE İLAVE ATMOSFERİK BASINÇLI  
SOĞUK PLAZMA KULLANIMININ KLİNİK, BİYOKİMYASAL  
VE MİKROBİYOLOJİK PARAMETRELER ÜZERİNE  
ETKİLERİ

Dt. DİĞDEM KÜÇÜK

Periodontoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından “Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi” olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: .15/.5./ 2017..

BAŞKAN

İmza

..... Üniversitesi

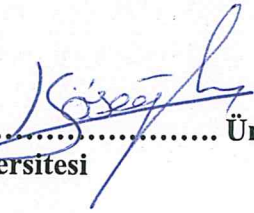


ÜYE

İmza

..... Üniversitesi

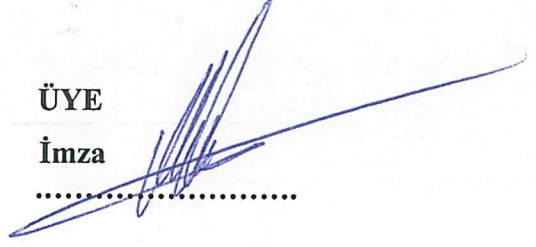
Üniversitesi



ÜYE

İmza

.....



ÜYE

İmza

..... Üniversitesi

Üniversitesi

ÜYE

İmza

.....

**İTHAF**



*Asya Helen'e*

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve uzmanlık tezimin tüm aşamaları süresince bilimsel ve mesleki tecrübesinden yararlandığım, eğitimim boyunca sabrını ve desteğini esirgemeyen değerli tez danışmanım Doç. Dr. Serhat KÖSEOĞLU' na,

Tüm eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, tezimin her aşamasında bana fedakârca yardım eden, eğitim sürecimin tamamında desteğini hissettiğim sayın hocam Doç. Dr. Mehmet SAĞLAM' a

Tezimin gerçekleştirilmesinde büyük katkısı bulunan, bilgi ve görüşlerinden yararlandığım sayın Yrd. Doç. Dr. Utku Kürşat ERCAN' a ve Yrd. Doç. Dr. Ozan KARAMAN'a

Periodontoloji uzmanlık eğitimim boyunca bilgisini ve deneyimlerini istek ve özveriyle paylaşan, desteğini hep yanımda hissettiğim değerli hocalarım Doç. Dr. Şükrü ENHOŞ ve Doç. Dr. Abdullah Seçkin ERTUĞRUL' a

Tez çalışmamın klinik aşamalarında desteğini duyduğum Levent SAVRAN'a, çalışmamın mikrobiyolojik aşamalarının tamamlanmasında büyük emeği bulunan, teknik ve bilgi olarak desteğini hep hissettiğim sevgili Ziyşan Buse YARALI' ya

Tez çalışmamı finansal olarak destekleyen TÜBİTAK'a,

Her türlü desteğiyle hep yanımda olan çalışma arkadaşım ve dostum Gözde VEYİSOĞLU'na

Asistanlığım boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım değerli meslektaşlarım ve arkadaşlarım Alparslan, İsmail, Erim, Fadime, Selin, Volkan, Kemal, Türker ve Erkan'a ayrıca sekreterimiz Begüm, hemşiremiz Tülay, personellerimiz Abdullah, Nuri ve Cihat'a

Bu zor süreçte beni hiç yalnız bırakmayan, desteklerini hep hissettiğim eşimin ailesi ve kendi aileme,

Son olarak biricik kızım Helen ve canım eşim Önder'e teşekkür ederim.

Mayıs 2017

Diğdem KÜÇÜK

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kabul ve Onay Sayfası...	İ
İthaf	İi
Önsöz ve Teşekkür	İii
İçindekiler	İv
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	Viii
Şekiller Dizini	Xi
Resimler Dizini	Xii
Tablolar Dizini	Xiii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Periodontitis	3
2.2. Kronik Periodontitis	3
2.2.1. Genel özellikleri	3
2.2.2. Hastalığın dağılımı ve şiddeti	4
2.2.3. Risk faktörleri	5
2.2.4. Etiyolojisi	5
2.3. Kronik Periodontitiste Mikrobiyal Dental Plakın Rolü	6
2.3.1. MDP oluşumu ve içeriği	6
2.3.2. MDP'nin periodontitisle ilişkisi	8
2.3.3. Plak hipotezleri	10
2.4. Periodontitisle İlişkili Olası Periodontopatojenler	12
2.4.1. <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	13
2.4.2. <i>Porphyromonas gingivalis</i>	17
2.4.3. <i>Tannerella forsythia</i>	21
2.4.4. <i>Treponema denticola</i>	23
2.4.5. <i>Fusobacterium nucleatum</i>	26
2.5. Periodontopatojenlerin Tespitinde Kullanılan Mikrobiyolojik Yöntemler	28
2.5.1. Bakteriyel kültür yöntemi	28

2.5.2. Direkt mikroskopi yöntemi	29
2.5.3. İmmüno-diagnostik yöntemler	29
2.5.4. Enzimatik yöntemler	30
2.5.5. Moleküler biyoloji teknikleri	30
2.6. Kronik Periodontitiste Konak Cevabının Rolü	32
2.6.1. Periodonsiyumdaki immüno-enflamatuvar cevap	33
2.6.2. Periodontal hastalık patogenezi	34
2.6.3. Sitokinler	37
2.6.4. Büyüme faktörleri	42
2.6.5. Matriks metalloproteinazlar	44
2.7. Konak Savunma Cevabının Tespiti ve Ölçümünde DOS	47
2.8. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri	48
2.8.1. Süperoksit radikalleri	50
2.8.2. Hidroksil radikali	51
2.8.3. Reaktif oksijen türlerinin ölçüm yöntemleri	52
2.9. Antioksidan Sistemler	53
2.9.1. Antioksidan kapasite'nin ölçüm yöntemleri	54
2.10. Kronik Periodontitisin Cerrahisiz Periodontal Tedavisi	55
2.10.1. Cerrahisiz periodontal tedaviye ilave yöntemler	59
2.11. Maddenin Dördüncü Hali "Plazma"	68
2.11.1. Atmosferik basınçlı soğuk plazmalar	70
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>77</b>
3.1. Araştırmanın Tasarımı ve Yöntemi	77
3.1.1. Çalışmaya dahil edilme kriterleri	79
3.2. Periodontal Klinik Değerlendirmeler	79
3.2.1. Sondalama cep derinliği	80
3.2.2. Klinik ataşman seviyesi	80
3.2.3. Plak indeksi	80
3.2.4. Gingival indeks	81
3.2.5. Diş eti kanama indeksi	82

3.3. Periodontal Tedavi Protokolü	82
3.3.1. DOS örneklerinin elde edilmesi	83
3.3.2. Subgingival plak örneklerinin elde edilmesi	83
3.3.3. Cerrahisiz periodontal tedavinin yapılması	84
3.3.4. Araştırma gruplarının oluşturulması	84
3.4. Biyokimyasal Analizlerin Yapılması	87
3.4.1. DOS örneklerinin biyokimyasal örnelemeye hazırlanması	87
3.4.2. IL-1 $\beta$ miktarının belirlenmesi	87
3.4.3. IL-10 miktarının belirlenmesi	88
3.4.5. VEGF miktarının belirlenmesi	89
3.4.6. MMP-8 miktarının belirlenmesi	89
3.4.7. TAOK miktarının belirlenmesi	90
3.4.8. TOS miktarının belirlenmesi	91
3.4.9. Oksidatif stres indeksi ölçümü	91
3.5. Mikrobiyolojik Analizlerin Yapılması	92
3.5.1. Subgingival plak örneklerinden RNA izolasyonu	92
3.5.2. RNA'dan tamamlayıcı DNA sentezi	93
3.5.3. cDNA'ların gerçek zamanlı PZR'de kantitasyonunun sağlanması	94
3.6. Verilerin İstatistiksel Analizi	96
<b>4. BULGULAR</b>	<b>97</b>
4.1. Klinik Bulgular	97
4.1.1. Tüm ağız klinik periodontal durum	97
4.1.2. Tedavi edilen bölgelerin klinik periodontal durumu	98
4.1.3. Örnek alınan dişlere ait klinik periodontal durum	106
4.2. Biyokimyasal Bulgular	109
4.2.1. DOS IL-1 $\beta$ değerlerinin incelenmesi	109
4.2.2. DOS IL-10 değerlerinin incelenmesi	110
4.2.3. DOS VEGF değerlerinin incelenmesi	111
4.2.4. DOS MMP-8 değerlerinin incelenmesi	113
4.2.5. DOS TOS değerlerinin incelenmesi	114



4.2.6. DOS TAOK değerlerinin incelenmesi	115
4.2.7. DOS OSİ değerlerinin incelenmesi	116
4.3. Mikrobiyolojik Bulgular	117
4.4. Korelasyonlar	120
<b>5. TARTIŞMA</b>	127
5.1. Araştırma Yönteminin Tartışılması	127
5.2. Klinik Bulguların Tartışılması	133
5.2.1. Pİ, Gİ ve SKY bulgularının tartışılması	133
5.2.2. SCD ve KAS bulgularının tartışılması	138
5.3. Biyokimyasal Bulguların Tartışılması	145
5.4. Mikrobiyolojik Bulguların Tartışılması	159
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	171
<b>ÖZET</b>	173
<b>SUMMARY</b>	175
<b>KAYNAKLAR</b>	177
<b>EKLER</b>	
EK-1: Etik Kurul Kararı	
EK-2: Tıbbi Cihaz Klinik Araştırması Uygunluk Belgesi	
EK-3: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

*Aa: Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

ABSP: Atmosferik Basıncılı Soğuk Plazmalar

ABTS: 2,2-Azino-Bis-3-etilbenzilTiazolin- 6-Sülfonik asit

BANA: N-benzol-*d* L-Arjinin-2-naftilamit

BspA: *Bacteroides* surface protein (yüzey proteini) A

cDNA: complementer (tamamlayıcı) DNA

CPT: Cerrahisiz Periodontal Tedavi

Ct: Cycle threshold (eşik döngü değeri)

DBD: Dielektrik Bariyer Deşarjı

dk.: dakika

DKİ: Diş eti Kanama İndeksi

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

DOS: Diş eti Oluğu Sıvısı

DYT: Diş Yüzeyi Temizliği

ELISA: Enzyme Linked İmmuno-Sorbent Assay (Enzimle işaretlenmiş immünosorbent testi)

Eq.: Ekvivalent

Er,Cr:YSGG: Erbiyum, kromyum: itriyum selenyum-galyum garnet

Er:YAG: Erbiyum: itriyum alüminyum-garnet lazer

ESM: Ekstrasellüler Matriks

FDT: Fotodinamik Tedavi

*Fn: Fusobacterium nucleatum*

g: gravite

Gİ: Gingival İndeks

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Hidrojen Peroksit

HOCl : Hipoklorit

HRP: Horse Raddish Peroxidase

Ig: İmmünglobülin

IL: İnterlökin  
IL-1 $\alpha$ : İnterlökin-1 alfa  
IL-1 $\beta$ : İnterlökin-1 beta  
IL-1F: IL-1 ailesi sitokinleri  
IL-1Ra: İnterlökin-1 Reseptör antagonisti  
KAS: Klinik Ataşman Seviyesi  
KYD: Kök Yüzeyi Düzleştirmesi  
l: litre  
LAP: Lokalize Agresif Periodontitis  
LJP: Lokalize Juvenil Periodontitis  
LPS: Lipopolisakkarit  
LtxA: Lökotoksin A  
Maks.: Maksimum  
MDP: Mikrobiyal Dental Plak  
Min.: Minimum  
ml: mililitre  
mm: milimetre  
mmol: milimol  
MMP: Matriks metalloproteinaz  
Nd: YAG: Neodyum: itriyum alüminyum-garnet  
Nf- $\kappa$ B: Nükleer faktör kappa B  
ng: Nanogram  
NO : Nitrik oksit  
O<sub>2</sub> : Oksijen  
O<sub>2</sub><sup>-</sup> : Süperoksit radikali  
O<sub>3</sub> : Ozon  
·OH: Hidroksil radikali  
OSİ: Oksidatif Stres İndeksi  
PI: Plak İndeksi  
*Pi: Prevotella intermedia*  
*Pg: Porphyromonas gingivalis*

PGE<sub>2</sub>: Prostaglandin-E<sub>2</sub>

pH: Potansiyel Hidrojen

PMNL: Polimorfonükleer Lökosit

RANKL: Reseptor Activator of Nuclear factor kappa-B Ligand (Nükleer faktör kappa-B ligandın reseptör aktivatörü)

RNA: Ribonükleik asit

RNT: Reaktif Nitrojen Tür

ROT: Reaktif oksijen tür

rpm: Revolutions per minute (dakikadaki döngü sayısı)

RT-PZR: Ters (Reverse)-transkriptaz PZR

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

s: saniye

SCD: Sondalama Cep Derinliği

SDT: Sitoletal Distending Toksin

SKY: Sondalamada Kanama Yüzdesi

Ss: Standart sapma

TAOK: Total Antioksidan Kapasitesi

*Td: Treponema denticola*

*Tf: Tannerella forsythia*

TGF- $\beta$ : Transforme edici büyüme faktörü-Beta

TIMP: MMP doku inhibitörü

TNF: Tümör Nekroz Faktörü

TMB: 3,3', 5,5'-Tetrametilbenzidin

TOS: Total Oksidan Seviyesi

UV: Ultraviyole

VEGF: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

$\mu$ l: mikrolitre

$\mu$ m: mikrometre

$\mu$ mol: mikromol

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Şekil 1:</b> Farklı mikrobiyal komplekslerin cep içindeki muhtemel yerleşimleri	9
<b>Şekil 2:</b> Haber-Weiss reaksiyonu	50
<b>Şekil 3:</b> Fenton reaksiyonu	51
<b>Şekil 4:</b> Oksidatif stres hasar mekanizması	55
<b>Şekil 5:</b> Plazmanın içerdiği kimyasal türler	69
<b>Şekil 6:</b> Araştırma akış şeması	78
<b>Şekil 7:</b> Çalışma gruplarının şematik gösterimi	85
<b>Şekil 8:</b> Çalışma protokolü özet şeması	86
<b>Şekil 9:</b> <i>Aa</i> , <i>Td</i> , <i>Pg</i> , <i>Tf</i> ve <i>Fn</i> 'nin başlangıca göre örnekleme zamanlarındaki kat değişimleri	120.

## RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Resim 1:</b> <i>Aa'</i> nin koloni görüntüsü	14
<b>Resim 2:</b> <i>Pg'</i> nin elektron mikroskop görüntüsü	18
<b>Resim 3:</b> <i>Tf'</i> nin elektron mikroskop görüntüsü	21
<b>Resim 4:</b> <i>Td'</i> nin floresan mikroskop görüntüsü	24
<b>Resim 5:</b> <i fn'<="" i=""> nin gram (-) boyanan kültür görüntüsü</i>	26
<b>Resim 6:</b> Periodontal cep içerisine ABSP uygulanması	85



## TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 1.1:</b> Mikrobiyal kompleksler içindeki bakteri türleri	10
<b>Tablo 1.2:</b> Proenflamatuvar ve antienflamatuvar sitokinler	38
<b>Tablo 1.3:</b> IL-1 sitokin ailesi	39
<b>Tablo 1.4:</b> MMP' lerin sınıflaması	45
<b>Tablo 1.5:</b> Reaktif oksijen türleri ve kimyasal simgeleri	50
<b>Tablo 2.1:</b> Standart PZR çalışma protokolü	94
<b>Tablo 2.2:</b> Bakterilere ait primer baz dizilimi	95
<b>Tablo 2.3:</b> Gerçek zamanlı PZR çalışma protokolü	95
<b>Tablo 3.1.:</b> Çalışma gruplarında tüm ağız klinik periodontal parametreler	98
<b>Tablo 3.2.:</b> Çalışma gruplarında 5 mm ve üzeri periodontal cep bulunan dişlerin Gİ, Pİ ve SKY' lerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	100
<b>Tablo 3.3.:</b> Çalışma gruplarındaki 5 mm ve üzeri tüm ceplere ait SCD ve KAS değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	101
<b>Tablo 3.4.:</b> Çalışma gruplarındaki 5 mm ve üzeri tüm ceplere ait SCD ve KAS değişim miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması	102
<b>Tablo 3.5.:</b> Çalışma gruplarındaki orta derinlikli (5-6 mm) ceplere ait SCD ve KAS değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	103
<b>Tablo 3.6.:</b> Çalışma gruplarındaki 5-6 mm orta derinlikli ceplere ait SCD ve KAS değişim miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması	104
<b>Tablo 3.7.:</b> Çalışma gruplarındaki derin ceplere ait SCD ve KAS değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	104
<b>Tablo 3.8.:</b> Çalışma gruplarındaki 7 mm ve üzeri derin ceplere ait SCD ve KAS değişim miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması	105
<b>Tablo 3.9.:</b> Çalışma gruplarındaki örnek toplanan dişlere ait Gİ, Pİ ve SKY değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	107
<b>Tablo 3.10.:</b> Çalışma gruplarındaki örnek alınan dişlere ait SCD ve KAS değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	108
<b>Tablo 3.11.:</b> Çalışma gruplarındaki örnek alınan dişlerin DOS hacimlerinin	

grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	109
<b>Tablo 3.12:</b> alışma gruplarındaki DOS IL- 1 $\beta$ total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	110
<b>Tablo 3.13:</b> alışma gruplarındaki DOS IL- 10 total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	111
<b>Tablo 3.14:</b> alışma gruplarındaki DOS VEGF total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	112
<b>Tablo 3.15:</b> alışma gruplarındaki DOS MMP-8 total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	113
<b>Tablo 3.16:</b> alışma gruplarındaki DOS TOS total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	115
<b>Tablo 3.17:</b> alışma gruplarındaki DOS TAOK total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	116
<b>Tablo 3.18:</b> alışma gruplarındaki DOS OSİ değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması	117
<b>Tablo 3.19:</b> alışma gruplarındaki subgingival mikrobiyal plakta <i>Aa</i> , <i>Td</i> , <i>Pg</i> , <i>Tf</i> ve <i>Fn</i> 'nin başlangıca göre örnekleme zamanlarındaki kat değişimleri	119
<b>Tablo 3.20:</b> alışma gruplarında klinik parametrelerin kendi arasındaki korelasyonu (Spearman korelasyonu)	121
<b>Tablo 3.21:</b> Test grubunda biyokimyasal, mikrobiyolojik ve örnek alınan dişlere ait klinik parametrelerin birbirleriyle korelasyonu (Spearman korelasyonu)	123
<b>Tablo 3.22:</b> Kontrol grubunda biyokimyasal, mikrobiyolojik ve klinik bulguların birbirleriyle korelasyonu (Spearman korelasyonu)	125
<b>Tablo 3.23:</b> alışma gruplarında $\geq 5$ mm tedavi edilen ceplere ait SCD ve KAS değerleri ile <i>Td</i> , <i>Pg</i> , <i>Tf</i> kat değişim miktarları arasındaki Spearman korelasyonu	126



## 1. GİRİŞ

Periodontitis mikrobiyal dental plak (MDP) bakterilerince başlatılan, bakteri ve ürünlerine karşı konağın verdiği immüno-enflamatuvar cevap sonucu gelişen, periodonsiyumun tüm yapılarını etkileyen yıkımla karakterize kompleks bir hastalıktır. Cerrahisiz periodontal tedavi (CPT)'de amaç; kök yüzeyinin tedavisi ve periodontal dokunun sürekli bağlantısı için hastalıklı kök yüzeyinin biyolojik uyum içinde yeniden restore edilmesidir. Bu amaçla dental plağı ve cep içerisindeki periodontopatojenleri azaltmak veya tamamen ortadan kaldırmak hedeflenmektedir.<sup>1</sup> Güncel tedavi yaklaşımları ile periodontopatojenleri ortadan kaldırmak yetersiz kalabilmekte, hastalık tekrar edebilmekte, diş kayıpları olabilmekte ve periodontal hastalığın sistemik sağlığa olan olumsuz etkileri gözlemlenebilmektedir. Periodontal tedavinin başarısını arttırmak için MDP ve olası periodontopatojenleri daha etkin bir şekilde ortadan kaldıracak yeni yöntemlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Mekanik tedaviye ilave çeşitli antibiyotikler ve irrigasyon solüsyonları kullanılsa da mevcut yan etkileri ve dezavantajları yeni yöntemlerin araştırılmasını zorunlu kılmaktadır.<sup>2</sup>

Herhangi bir gaza yüksek enerji verilmesiyle gazın elektron ve iyonlarına ayrılması sonucu yüklü hale gelmesi maddenin plazma hali olarak tanımlanmaktadır. Atmosferik Basıncılı Soğuk Plazmalar (ABSP) elektron ve iyon gibi şarjlı partiküller, serbest radikaller gibi çeşitli reaktif türler içerir. Plazmanın içerdiği bu kimyasal karışım sayesinde bakteri, spor, mantar ve virüs gibi birçok mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal etkinlik göstermektedir.<sup>3</sup>

Bu klinik çalışmada, kronik periodontitis hastalarında, CPT'ye ilave olarak cep içi dekontaminasyonunda yeni bir yöntem olan ABSP uygulamasının etkinliğini klinik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. ABSP'nin etkinliğini hastaların;

1. Klinik periodontal parametreleri [plak indeksi (Pİ), sondalama cep derinliği (SCD), gingival indeks (Gİ), diş eti kanama indeksi (DKİ) ve klinik ataşman seviyesi (KAS)] üzerine,

2. Diş eti oluğu sıvısı (DOS)'nda bulunan interlökin (IL)'lerden interlökin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), IL-10, matriks metalloproteinaz-8 (MMP-8), vasküler endotelial

büyüme faktörü (VEGF), total oksidan seviyesi (TOS) ve total antioksidan kapasitesi (TAOK) üzerine,

3. Subgingival floradaki bakterilerden *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (Tf), *Treponema denticola* (Td) ve *Fusobacterium nucleatum* (Fn) üzerine olan etkileri incelenerek değerlendirilmesi hedeflenmektedir.

CPT uygulamasına ilave olarak ABSP kullanımının el aletlerinin ulaşamayacağı güç bölgeler ve derin ceplerde biyofilm üzerine antimikrobiyal etkinlik sağlayacağını ve periodontal yara iyileşmesine katkısı olacağı düşünülmektedir. Bununla birlikte ABSP'nin hastaların klinik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik parametreleri üzerine olacak olası faydaları sayesinde hastalık rekürrensleri ve hastaların ileri cerrahi periodontal tedavi gereksinimlerinin azaltılabileceğini ve hastaların yaşam kalitesinin arttırılabileceğini de düşünmekteyiz.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Periodontitis**

Periodontal hastalıklar, diş eti, periodontal ligament, sement ve alveoler kemiği gibi diş destek dokularının bakteriyel enflamatuvar hastalıklarıdır. Periodontal hastalık etiolojisinde temel olarak MDP içerisindeki patojen bakteriler olmak üzere lokal etkenler, konak cevabı, kullanılan ilaçlar, çevresel ve kazanılmış faktörler ve genetik yatkınlıkların önemli rol oynadığı karmaşık bir patogeneze sahiptir.<sup>4</sup>

Geçmişte erişkin periodontitis, erken başlangıçlı-juvenil periodontitis gibi çeşitli isimlerle sınıflandırılan periodontitisin günümüzde 1999 yılında Armitage tarafından yapılan sınıflandırma<sup>5</sup> kullanılmaktadır. Bu sınıflandırmaya göre periodontitisin üç formu bulunmaktadır: Kronik periodontitis, agresif periodontitis ve sistemik hastalıklara bağlı gelişen periodontitis. Kronik periodontitis, uzun süreli kronik enflamasyon sonucu diş destek dokularında meydana gelen, yavaş ilerleyen yıkımla karakterize olan diğer periodontitis türleri içinde toplumda en sık rastlanan periodontitis tipidir.<sup>6</sup>

### **2.2. Kronik Periodontitis**

Kronik periodontitis dişleri çevreleyen destek dokuların mikroorganizmalara karşı oluşturdukları lokalize enflamatuvar reaksiyonlarla başlayan; cep oluşumu, diş eti çekilmesi veya her ikisinin oluşumu ile birlikte, periodontal ligament ve alveoler kemik gibi dişin çevre dokularında yıkıma neden olarak; diş kaybı, çiğneme fonksiyonunda bozukluk ve estetik sorunlara yol açan multifaktöriyel, enflamatuvar bir hastalıktır.<sup>7</sup>

#### **2.2.1. Genel özellikleri**

Kronik periodontitis yavaş ilerleyen bir hastalıktır. Herhangi bir yaşta görülebilmekle birlikte daha çok erişkinlerde görülmektedir. Tedavi edilmemiş bir kronik periodontitiste karakteristik klinik bulgulara bakıldığında hastaların çoğunun

zayıf ağız hijyene sahip olduğu, sıklıkla diş taşı mevcudiyeti ile birlikte supragingival ve subgingival plak varlığı gözlenmektedir.<sup>7</sup> Kronik periodontitiste diş etinde enflamasyon varlığı, cep oluşumu, periodontal ataşman kaybı yanında horizontal veya açısız kemik kaybı ile karakterizedir. Kronik periodontitiste diş eti kanaması, diş etinde pürüzlülük kaybı, ödem, form ve renk değişikliği de görülmektedir. Bazı durumlarda bağ dokusunda fibröz eleman artışına bağlı olarak sağlıklıya yakın diş eti rengi klinik olarak gözlemlenmektedir. Ayrıca ileri derecede ataşman ve kemik kaybı bulunan dişlerde mobilite de görülebilir.<sup>8</sup>

### 2.2.2. Hastalığın dağılımı ve şiddeti

Periodontitisin ilerleme hızı kişiler arasında farklılık göstermektedir. Ancak artan yaş ile birlikte ataşman ve kemik kaybının sıklığı ve şiddeti artış göstermektedir. Kronik periodontitisin ağızda her diş eşit şekilde etkilemediği ve alana özgü bir hastalık olduğu bilinmektedir.<sup>7</sup> Periodontitis spesifik mikroorganizmaların periodontal cep içerisinde biyofilm oluşturmasını takiben konak yanıtı ile dengenin bozulduğu dönemlerde ataklar halinde gelişmekte olup aynı ağızda farklı bölgelerde hatta aynı dişin değişik bölgelerinde farklı şiddette seyretmektedir. Socransky ve ark. periodontitisin alevlenme ve duraksama dönemleri şeklinde ilerleyen bu süreci “burst (alevlenme) hipotezi” olarak isimlendirmişlerdir. Ayrıca klinik olarak hastalığın ilerleyici yapısının ancak tekrarlayan muayenelerden sonra izlenebilir olduğunu belirtmişler ve tedavi edilmeyen lezyonların ilerleyeceği gerçeği üzerinde fikir birliği sağlanmıştır.<sup>9</sup> Bu nedenle periodontitis “alana özgü bir hastalık” olarak tanımlanmakta; aktif ve pasif dönemleri ile epizodik bir karakter sergilemektedir. Cep içerisinde kanama ve pü bulguları hastalığın aktif dönemde olabileceğinin önemli bir göstergesidir.<sup>4</sup>

Periodontitis yaygınlığına göre; hastalıktan etkilenen bölge sayısı %30 ve daha az ise *lokalize kronik periodontitis*, %30'dan fazla ise *generalize kronik periodontitis* olarak sınıflandırılır.<sup>7</sup> Periodontal hastalığın şiddetine göre klinik ataşman kaybı 1-2 milimetre (mm) ise hafif periodontitis, 3-4 mm ise orta periodontitis, 5 mm'den fazla ise şiddetli periodontitis olarak sınıflandırılmaktadır.<sup>7</sup>

Periodontal cep oluşumu dişi destekleyen periodontal dokuların kaybı sonucu gingival sulkusun patolojik olarak derinleşmesi, epitelyal ataşmanın mine sement sınırının apikaline taşınmasıyla oluşmaktadır. Periodontal cebin klinikte tespiti periodontal sonda ile dikkatli bir muayene yapılması ile gerçekleştirilir. Periodontal cepler sürekli tamir sürecinde olan kronik enflamatuvar lezyonlar olup bakteriyel ataklar devam ettikçe yapım ve yıkımdan sorumlu patofizyolojik süreçler arasındaki dengenin bozulmasıyla epitelyal ataşman daha apikale hareket etmektedir. Periodontal cebin bir diş kök yüzey duvarı bir de cebin yumuşak doku duvarı bulunmaktadır. Cebin yumuşak doku duvarı MDP ile konak cevabı arasındaki dengeye bağlı olarak ödematöz veya fibrotik olabilmektedir. Kemik kaybı yapısal olarak incelendiğinde vertikal ve horizontal kemik kayıpları görülebilir. Vertikal kemik kayıpları cep tabanının komşu alveoler kemiğin koronal kısmından aşağıda kaldığı kayıplardır ve kemik içi cep olarak, horizontal kemik kayıpları ise cep tabanının destek alveoler kemiğinin koronalinde kaldığından kemik üstü cep olarak adlandırılır.<sup>10</sup>

### *2.2.3. Risk faktörleri*

Bireyin hastalığa yakalanma olasılığını ve hastanın duyarlılığını arttıran faktörlerdir. MDP periodontal yıkımı başlatan ana neden olduğundan plak birikimini arttıran her türlü lokal etken (diş taşı, taşkın dolgular, uyumsuz restorasyon kenarları, çürük, kökte bulunan oluk, yivler vb.) periodontal hastalık riskini arttıran plak tutucu faktörlerdir. Diyabet gibi sistemik faktörlerin yanında genetik faktörler; sigara içimi, stres gibi çevresel faktörler de bireyi periodontal hastalık açısından riskli duruma getirmektedir.<sup>11</sup>

### *2.2.4. Etiyolojisi*

Kronik periodontitiste sorumlu temel etiyolojik faktörün MDP içinde bulunan spesifik mikroorganizmalar ve onların toksinleri olduğu bilinmektedir. Her periodontitis gingivitisten gelişmekte ancak her gingivitis periodontitise dönüşmemektedir. Gingivitisin periodontal hastalığa dönüşümünde bazı faktörler üzerinde durulmaktadır. Gingivitiste mevcut mikrobiyal floraya doku yıkımı yapan

patojenlerin yerleşmesine neden olacak ekolojik değişiklikler olması periodontitise yol açabilmektedir. Konağa bağlı faktörlerden immün sistemde var olan veya sonradan kazanılmış bir takım değişiklikler sonucu MDP'ye karşı gelişen konak cevabı doku yıkımına neden olabilecek bir yapı kazanabilir.<sup>12</sup> Periodontal hastalığın MDP ile konak cevabı arasındaki etkileşimi sonucu ortaya çıktığı çeşitli genetik, sigara, diyabet, stres, sosyoekonomik durum gibi çevresel ve kazanılmış risk faktörlerinin konak cevabını yönlendirdiği kabul edilmektedir.<sup>11</sup>

### **2.3. Kronik Periodontitiste Mikrobiyal Dental Plağın Rolü**

#### **2.3.1. MDP oluşumu ve içeriği**

Ağız kavitesinde kültür çalışmaları ve moleküler çalışmalarla tanımlanmış 700'den fazla bakteri türü bulunmaktadır.<sup>12</sup> Bakterilerin birçoğu biyofilm adı verilen kompleks topluluklar içinde yaşamaktadır. Biyofilm, canlı ya da cansız yüzeye tutunan bakteri mikrokolonileri ve onların ürettiği, kolonileri sararak koruyucu görev yapan ekstrasellüler matriks (ESM)'ten (glikokaliks adı verilen) oluşan bir kompleks olarak adlandırılmaktadır. Biyofilm içinde mikrokoloniler arasında besinlerin ve diğer bakteriyel ürünlerin taşınmasını sağlayan sıvı kanalları ile kimyasal sinyallerin taşınmasını sağlayan primitif iletişim sistemi bulunmaktadır.<sup>13</sup> Biyofilm yapısının, bakteri tipine ve oluşturulduğu bakteri sayısına bağlı olarak tek bir tabakadan organize olmuş çok katlı yapıya kadar büyük bir değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir.<sup>14</sup>

Biyofilm implant, protez, diş yüzeyleri vb. cansız yüzeylerde ve canlı dokularda da oluşabilmektedir. Diş yüzeylerinde biyofilm oluşumu çok aşamalı dinamik bir yapılanmadır. Ağız hijyenin bırakılmasından 8 saat sonra diş yüzeyinde bakteri sayısı  $\text{mm}^2$ 'de  $10^3 - 10^4$ 'e ulaşır ve sonraki 24 saat içerisinde bu sayı 100 ile 1,000 kat artar.<sup>15</sup> Diş yüzeylerinin profesyonel temizliğinden saniye (s)'ler sonra tükürük içinde bulunan glikoproteinler (müsin vb.), fosfoproteinler, amilaz gibi enzimler, prolin ve histidinden zengin proteinler diş yüzeylerine Van der Waals kuvvetleri, elektrostatik kuvvetler ve hidrofobik kuvvetlerle yapışarak kazanılmış

pelikül oluşumunu sağlar. Kazanılmış pelikül formasyonu bakterilerin dış yüzeylerine tutunmasına aracılık eder.<sup>13</sup>

Pelikül kaplı dış yüzeyine adhezinler aracılığıyla ilk olarak gram (+) fakültatif mikroorganizmalar (*Actinomyces* ve *Streptococcus* türleri) tutunur. *Actinomyces* türleri aynı zamanda ilk kolonizerler olarak görev yapmaktadırlar. Erken kolonizerlerin sayıca artıp yüzeye yayılmasını takiben birbirleriyle otoagregasyon yapmaları ve ekstrasellüler polisakkarid üretmeleri ile mikrokoloniler oluşturulur. Ardından erken kolonizerlere tutunan *Veillonella*, *Prevotella* ve *Capnocytophaga* türleri ve tüm bakterilere tutunabilen Füzobakterilerin koagregasyonu gerçekleşir. *Fn* erken kolonize olan bakterilerle geç kolonize olanlar arasındaki koagregasyonda köprü görevi görmektedir. Bu aşamadan sonra mikro çevrede anaerob bakteriler baskın türler olur. Gram (-) bakteriler, spiroketler ve hareketli bakterilerin de koagregasyonu ile plak olgun hale gelir.<sup>13, 16</sup>

Bir gram dental plağı mikroskopik olarak incelendiğinde yaklaşık  $10^{11}$  bakteri olduğu görülmektedir.<sup>13</sup> MDP içinde 500'den fazla farklı bakteri türü ayrıca protozoa ve virüs gibi bakteri olmayan türler de bulunmaktadır. MDP içeriğinde mikroorganizmalara ilave tükürük, DOS ve bakteri ürünlerinden oluşan inorganik ve organik bileşenleri bulunan karmaşık bir yapıdır. Plağın organik bileşenlerini glikoproteinler, polisakkaritler (dekstran vb.), proteinler (albumin vb.) ve lipitler; inorganik yapısını ise baskın olarak kalsiyum, fosfor, sodyum, potasyum ve flor oluşturmaktadır. Supragingival ve subgingival plağın mikrobiyolojik özellikleri ve mikrobiyal kompozisyonları birbirinden farklıdır. Supragingival plağın inorganik içeriğinin primer kaynağını tükürük, subgingival plağın ise DOS oluşturmaktadır.<sup>13</sup>

Diş eti kenarının koronalinde bulunan supragingival plak, diş eti kenarının apikalinde ve periodontal cep içinde yer alan subgingival plağın başlangıç oluşumunu destekler.<sup>17</sup> Supragingival plak içinde fermente olmuş organik asitler, sülfür komponentleri, doku sindirim enzimleri, lipopolisakkarit (LPS) ve peptidoglikanlar DOS artışına yol açar. Serumdan köken alan DOS, bakteriler için yeni bir besin kaynağı olarak işlev görür ve iltihaplı diş etine komşu plakta ekosistem değişikliğine yol açar.<sup>13</sup>

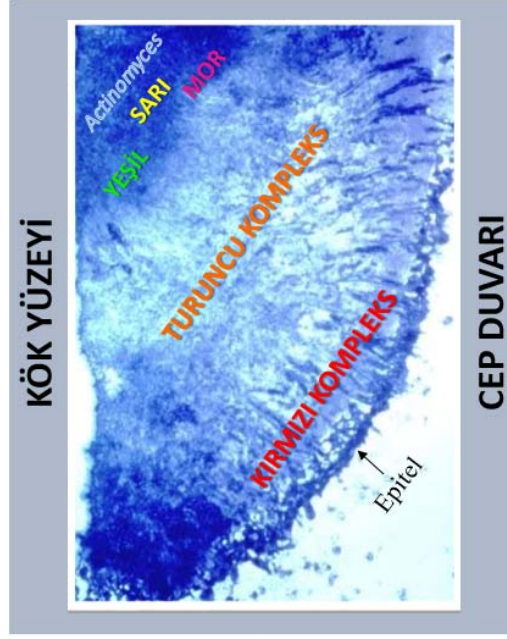
Subgingival plak diş yüzeyine sıkıca tutunduğu “yapışık alan”, zayıf tutunma gösteren “yapışık olmayan alan” ve “epitelle ilişkili alan” olmak üzere üç bölgeye ayrılabilir. Yapışık plak gram (+) kok ve çomaklardan; yapışık olmayan plak gram (-) ve hareketli çomaklardan oluşur. Bu bölge DOS’un taşıdığı enflamatuvar hücrelerden oldukça etkilenen biyoaktif bir alandır. *Pg* ve *Td* bu bölgede baskın türlerdir. Periodontal hastalığın cep epiteline komşu bölgede bulunan plak bakterilerinin bağ dokusuna invazyonu sonucu başladığı düşünülmektedir.<sup>13, 18</sup>

### 2.3.2. MDP'nin periodontitisle ilişkisi

Periodontal sağlıktan hastalığa geçiş süreci içerisinde, subgingival plak mikroorganizma profilinde çeşitli değişimler söz konusu olur. Periodontal olarak sağlıklı bölgelerde gram (+) fakültatifler, *Streptococcus*'lar ve *Actinomyces*'ler baskınken gingivitis ve periodontitiste gram (-) türlerin oranı göreceli olarak artar. Benzer şekilde periodontal olarak sağlıklı bireylerde anaerobik türlerin oranı düşük iken periodontitiste bu oran oldukça yüksektir.<sup>13</sup> Kronik periodontitiste sıklıkla yüksek seviyelerde *Prevotella intermedia* (*Pi*), *Tf*, *Pg*, *Fn*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Aa* serotip b, *Parvimonas micra*, *Treponema* ve *Eubacterium* türleri bulunmaktadır. Hastalık açısından bakıldığında, periodontal aktif alanlar inaktif alanlarla kıyaslandığında *Campylobacter rectus*, *Pg*, *Pi*, *Fn* ve *Tf* aktif alanlarda daha fazla bulunmuştur.<sup>13</sup>

Periodontitisli hastalarda periodontal patojenlerin subgingival alandaki birliktelikleri, oluşturdukları mikrobiyal kompleksler ve bu kompleksler arasındaki karmaşık ilişkiler, Socransky ve ark.<sup>19</sup> tarafından ayrıntılı olarak çalışılmıştır. Socransky ve ark.'nın periodontal olarak sağlıklı ve hastalıklı bireylerden topladıkları subgingival plak örneklerini deoksiribo nükleik asit (DNA) hibridizasyon tekniği kullanarak incelemişler, bakterilerin cep içerisindeki konumu ve birlikteliklerine göre renk skalası oluşturmuşlardır (Bkz. Şekil 1).





**Şekil 1:** Farklı mikrobiyal komplekslerin cep içindeki muhtemel yerleşimleri.<sup>19</sup>

Socransky ve ark.<sup>19</sup> hem bakterilerin birbirleriyle ilişkisini hem de mikroorganizmaların cep içindeki konumunu göz önüne alarak altı özel bakteri tür birlikteliği açıklamışlardır. Bu sayede periodontal sağlık ve hastalıkla ilişkili olduğu düşünülen çok sayıda kompleks bakteriler belli gruplar altına alınarak sadeleştirilmiştir (Bkz. Tablo 1.1). Bu birlikteliklerden *Actinomyces* türleri, sarı, yeşil ve mor kompleks bakterileri, diş yüzeyinde en erken kolonize olan türlerdir. Daha sonra turuncu kompleks bakterileri plak içinde sayıca artış göstermekte ve erken kolonizerler ile geç dönemde kolonize olan kırmızı kompleks bakteriler arasında köprü görevi görmektedir. *Aa*'nın serotip b'si ise bu komplekslerle daha az ilişkide görülmüştür.<sup>20, 21</sup> Bu gruplamaya göre cep derinliği ve sondalamada kanama gibi periodontal hastalığın önemli klinik bulgularıyla özellikle sırasıyla kırmızı kompleks (*Pg*, *Tf*, *Td*) ve turuncu kompleks (*Pi*, *Fn*) bakteriler arasında kuvvetli ilişki bulunmuştur.<sup>19</sup>

**Tablo 1.1:** Mikrobiyal kompleksler içindeki bakteri türleri.<sup>19</sup>

Mikrobiyal kompleks	Bakteri türleri
MAVİ	<i>Actinomyces türleri</i>
MOR	<i>Veillonella parvula, Actinomyces odontolyticus</i>
SARI	<i>Streptococcus mitis, Streptococcus oralis, Streptococcus sanguinis, Streptococcus gordonii, Streptococcus intermedius</i>
YEŞİL	<i>Eikenella corrodens, Capnocytophaga gingivalis, Capnocytophaga sputigenia, Capnocytophaga ochracea, Capnocytophaga concisus, Aa 'nın serotip a 'sı</i>
TURUNCU	<i>Campylobater gracilis, Campylobater rectus, Campylobater showae, Eubacterium nodatum, Fusobacterium nucleatum, Prevotella intermedia, Peptostreptococcus micros, Prevotella nigrescens, Streptococcus constellatus</i>
KIRMIZI	<i>Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythia, Treponema denticola</i>

### 2.3.3. Plak hipotezleri

Oral mikrobiyal ekoloji dinamik bir yapıdır. Plak içindeki her bir mikroorganizma diğer mikroorganizma türleri ve çevresiyle karşılıklı etkileşim içindedir. MDP ve periodontal hastalık ilişkisinin ilk incelendiği dönemlerden günümüze kadar çeşitli plak hipotezleri ortaya atılmıştır. Bunlar; non-spesifik plak hipotezi, spesifik plak hipotezi, ekolojik plak hipotezi ve key stone (kilit taşı) plak hipotezi'dir.<sup>22</sup>

19. yüzyılda “non-spesifik plak hipotezi” ortaya çıkmıştır. Bu hipotezde MDP miktarı arttıkça zararlı ürünlerin oranının artacağı dolayısı ile periodontal doku yıkımının da artacağı düşünülmekte; plak içindeki tüm bakterilerin eşit patojeniteye sahip olduğu varsayılmaktaydı. Oysa önemli miktarda plağa sahip ve gingivitisli

birçok bireyde periodontitis gelişmemesi, periodontal hastalıktan etkilenen ve etkilenmeyen bölgelerin aynı ağızda yakın komşulukta bir arada bulunması gibi gözlemler “spesifik plak hipotezi”ni ortaya çıkarmıştır. Bu hipoteze göre dental plağın sadece bir kısmı patojeniktir ve içeriğinde bulunan spesifik periodontal patojenlerin düzeyi periodontal doku yıkım şiddetini belirlemektedir.<sup>13</sup> Ancak MDP içerisinde yaklaşık %50 oranında kültür edilemeyen mikroorganizmaların varlığı ve yapılan çalışmalarda periodontal hastalık için hala spesifik bir bakteri türünün sorumlu tutulamaması spesifik plak hipotezini sınırlamaktadır. Bu sınırlayıcı faktörler göz önüne alınarak “ekolojik plak hipotezi” ortaya atılmıştır. Subgingival plak ekosisteminin, bazı endojen bakterilerin patojenik özellik kazanması için elverişli duruma gelmesiyle plak virülansının arttığını ve dolayısıyla hastalık oluşumuna yol açtığını savunan “ekolojik plak hipotezi”; mikroçevrede bulunan besin, potansiyel hidrojen (pH) ve redoks potansiyeli gibi ekolojik faktörlerdeki değişimlerin mikrobiyal kompozisyonun değişimine yol açtığını savunmaktadır. Ancak diğer hipotezler gibi bu hipotezde de konağa bağlı genetik faktörlerin dental plak kompozisyonu ve hastalığa duyarlılık üzerine olan etkisi yeterince açıklanamamıştır. Bu nedenle Hajishengallis ve ark.<sup>23</sup> “keystone-patojen hipotezi”ni ortaya koymuşlardır. Bu hipotezde sağlıklı bireylerde düşük yoğunlukta bulunan mikrobiyal patojenler sayıca artış göstermekte ve plağın kompozisyonunu değiştirerek hastalık oluşumunu başlatmaktadır. “Keystone patojenler” baskın türlerde olduğu gibi sayıca fazla olduğunda değil sayıca az bulunduğu enflamasyonu tetiklemektedir. Hastalık gelişip ileri aşamalara gelindiğinde “keystone patojenler” yüksek miktarda tespit edilebilirler. Her ne kadar mutlak sayıları artsa da, periodontitiste artış gösteren plak birikimi nedeniyle toplam bakteri yüküne kıyasla “keystone patojenler”in seviyeleri düşebilmektedir. Mikroorganizmadan arındırılmış hayvan modellerinde *Pg*'nin tek başına kolonize olabilmesine rağmen diğer türler olmadan hastalık oluşturamaması, hastalık oluşumu sürecindeki mikrobiyal birlikteliği açıkça göstermekte ve “keystone-patojen hipotezi”ni desteklemektedir.<sup>23</sup> “Keystone-patojen hipotezi”nde konak immün cevabının patojenler ve patojen virülansları üzerindeki etkileri ile patojenlerin konak immün-düzenleyici etkilerinin karşılıklı biçimde ele alınması gerekliliği vurgulanmaktadır.<sup>22</sup> Ancak subgingival alanda bulunan karışık mikrobiyal çevre ve ona karşı oluşturulan kompleks konak immün cevabı nedeniyle günümüz bilgilerimiz,

bizlere hala periodontal hastalıkla ilişkisi kesinleşmiş bir patojen sunamamaktadır. Bu nedenle periodontal hastalıkla ilişkili olası periodontopatojen tanımlaması yapılmaktadır.

#### ***2.4 Periodontitisle İlişkili Olası Periodontopatojenler***

Periodontal hastalıkla ilişkili tüm türlerin kültür edilememesi, aktif periodontal hastalık alanlarının tespitinde yaşanan zorluklar ve periodontitisin araştırılmasında uygun hayvan model sistemlerinin olmayışı nedeniyle, Socransky ve ark.<sup>24</sup> enfeksiyöz bir hastalıkta, etken mikroorganizmanın tanımlanması için gerekli ölçütler sunan Koch ölçütlerini modifiye ederek bir mikroorganizmanın periodontopatojen olarak tanımlanabilmesi için gereken kriterleri belirlemişlerdir. Modifiye edilmiş bu kriterlere göre potansiyel patojen;

- a) Hastalıkla ilişkili olmalı, hastalıklı alanlarda sayıca artış göstermeli,
- b) Hastalığın tedavisi sonrası bölgeden arındırılmış veya sayıca azaltılmış olmalı,
- c) Konakta hücrel veya humoral immün cevap geliştirebilmeli,
- d) Deneysel hayvan modellerinde benzer lezyon oluşturabilmeli,
- e) Periodontal dokuların yıkımına neden olabilecek virülans faktörlerine sahip olduğu gösterilebilmelidir. Bu ölçütlere uygunluğu en güçlü olan olası periodontopatojenler *Aa* ve *Pg*'dir.<sup>24</sup>

Bir mikroorganizmanın patojen olarak kabul edilebilmesi için hastalığa neden olabilme özelliklerine yani virülans faktörlerine sahip olması gerekmektedir.<sup>25</sup> Bakterilerin, periodontal çevrede hayatlarına devam edebilmeleri için ya konak savunmasından kaçabilmeleri ya da konak savunmasını etkisiz hale getirmeleri gerekmektedir. Bakterilerin ökaryot hücrelere adezyon ve invazyon yapması, hem doğal hem de kazanılmış konak defans mekanizmasından kaçabilmeleri anahtar virülans aktiviteleridir. Bakteriler, konak sekresyonlarından kurtulma ve konak bariyerlerini aşmada sahip oldukları virülans faktörleri sayesinde periodontal çevreye tutunabilmekte ve konak dokusuna invaze olabilmektedir.<sup>18, 25</sup>

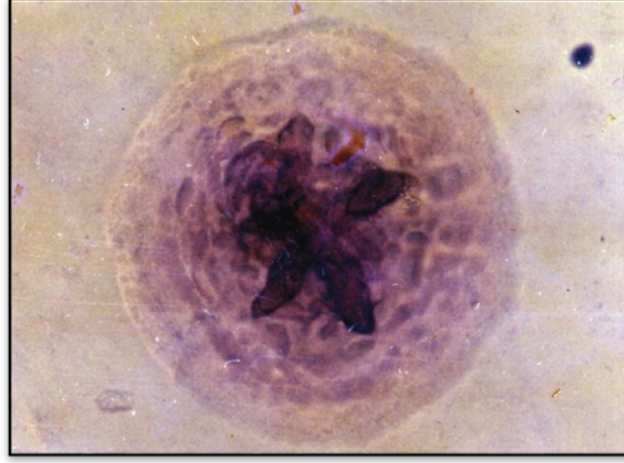
DOS, diş eti oluşunu ve/veya periodontal cebi yıkayarak, fiziksel olarak mikroorganizmalara karşı koruyucu bir etki göstermektedir. Bakterilerin, DOS akışından etkilenmemeleri ve cep içinde kolonize olabilmeleri için uygun yerlere tutunmaları (adezyon) gerekmektedir. Bakteriler, diş eti oluşu veya cep epitelindeki ülserasyonlardan konak dokularına sızabilir ve diş eti dokusunun hücreler arası boşluklarında görülebilmektedirler. Bununla birlikte bakterilerin konak epitelyal ve bağ dokusu hücreleri içine direkt penetrasyonu da mümkündür. Direkt doku içine invazyon gösteren bakteriler arasında *Aa*, *Pg*, *Tf*, *Fn*, *Td* ve *Pi* bulunmaktadır.<sup>25, 26</sup> Doku içine penetre olabilen bu bakteriler, cep ortamında rekolonize olabilmekte ve mekanik tedaviye direnç gösterebilmektedir.<sup>27</sup>

Konak dokusuna kolonizasyon fimbriya, lipoteikoik asit, LPS, ekzopolisakkaritler, dış membran proteinleri ve dış membran veziküllerini içeren virülans faktörleri ile sağlanır.<sup>25, 28</sup> Diğer virülans faktörleri kemik ve bağ dokusu gibi konak dokularına direkt zarar veren proteazlar, aşırı immün cevap oluşturup konak hasarına yol açan LPS gibi immün-modülatör elemanlardır. Bazı spesifik bakteriler Ig-parçalayıcı proteaz üretebilme yeteneğine sahip olup konak savunmasını etkisiz hale getirebilmekte, bakterinin immünglobülin (Ig)'ler ile opsonize edilip, savunma hücreleri tarafından fagositozunu engelleyebilmektedir.<sup>25</sup> Bazı bakteriler savunma hücrelerinin aktivitelerini baskılayan veya onları öldüren maddeler üretebilmektedir. Bakteriler, salgıladıkları bir takım enzimler ile direkt doku hasarına neden olabildikleri gibi, konak doku hücrelerinden elastaz, MMP'ler gibi doku yıkımı yapan konak proteazlarının salınımını indükleyerek, konak dokularında dolaylı olarak yıkıma neden olabilmektedirler.<sup>25</sup> Periodontal mikroflorada her bir mikroorganizma türünün kendine özgü virülans faktörleri bulunmakta, bu sayede mikroorganizmanın hem tür içi ve türler arası hem de konak dokuları ve immün sistem elemanlarıyla etkileşimi gerçekleşmektedir.

#### 2.4.1. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

*Aa* kapnofilik, gram (-), fakültatif anaerob, sakkarolitik, spor oluşturmayan, hareketsiz ve 0.4-1 mikrometre ( $\mu\text{m}$ ) boyutlarında küçük bir kokobasildir. (Bkz. Resim 1).<sup>13, 29</sup> *Aa*'nın iç ve dış sitoplazmik membranı arasında periplazmik aralık

bulunmakta, yüzey yapısı vezikül, fimbriya ve hücre dışı amorf materyallerden, dış membranı ise LPS ve lipooligosakkaritlerden oluşmaktadır.<sup>30</sup>



**Resim 1:** *Aa*'nın koloni görüntüsü.<sup>31</sup>

*Aa*'nın LPS'sinin yüksek molekül ağırlıklı O-polisakkarit zincirinde 6 serotip (a-f) tespit edilmiş olup filogenetik olarak üç ana serotip ailesi belirlenmiştir. Bunlar serotip b zinciri, serotip c zinciri ve serotip a, d, e, f zincir ailesidir.<sup>32, 33</sup> *Aa*'nın ağız kavitesinde en sık izole edilen türleri serotip a ve b iken serotip c ağız dışı enfeksiyonlardan sorumlu tutulmaktadır. Serotip b lokalize juvenil periodontitis (LJP) ile ilişkili bulunurken sağlıklı alanlardan en sık serotip c izole edilmiştir.<sup>29</sup> *Aa* serotipleri bireylerde dağılımı coğrafik bölgelere ve etnik kökene göre farklılık göstermektedir. Ülkemizde ve Amerika'da LJP'li hastalarda *Aa* serotiplemesinin yapıldığı çok merkezli bir çalışmada Amerika'daki LJP'li bireylerde en sık serotip b izole edilirken; Türkiye'deki LJP'li hastaların %27'sinde serotip c'ye, %31'inde a ve c'ye, %29'unda ise serotip a, b ve c'nin üçüne de antikor cevabı geliştiği gözlenmiştir.<sup>34</sup> Farklı serotipler farklı virülans faktörlerine sahiptir. Bu durum *Aa*'nın periodontal hastalık patogenezindeki rolünü de etkilemektedir.<sup>33</sup>

*Aa* çok sayıda virülans faktörüne sahiptir. Bunlar;

- Ağız kavitesinde kolonizasyonunu ve yerleşmesini sağlayan fimbriya, adezin, bakteriosin ve invazınlar,

- Dış membran veziküllerinde kemik rezorpsiyon aktivitesi bulunan endotoksin ve bakteriosinler,

- Konak defansından kaçmasını sağlayan immün baskılayıcı lökotoksin, kemotaksi inhibitörü ve Fc bağlayıcı proteinleri,

- Konak dokusunda tahribat yapan kollejenaz, sitotoksin, endotoksin, sitoletal distending toksin (SDT) ve epiteliotoksini

- Konak dokusunun tamir yeteneğini bozan fibroblast ve kemik formasyon inhibitör faktörleri bulunmaktadır.<sup>30, 33</sup>

*Aa*'nın ürettiği adezinler, *Aa*'nın diğer bakteri türlerine yapışmasına ve konak hücresi içine girişine aracılık eder. *Aa*'nın fimbriyası, fimbriyayla ilişkili protein olarak adlandırılan düşük molekül yoğunluğunda protein içermektedir ve konak dokusuna kolonizasyondan sorumludur.<sup>30</sup> *Aa*'nın ökaryot hücresi içerisine mikrotübüller aracılığıyla girebildiği ve *Aa*'nın hücre içine girişinin *Aa* ile hücre/yüzey etkileşimi gerçekleşip krater formasyonu oluştuktan çok kısa bir süre (30 dk.) sonra gerçekleştiği gösterilmiştir.<sup>35</sup> Bununla birlikte biyofilm içindeki tüm bakteri türleri birbirleriyle dengeli bir ilişki içinde bulunmaktadır. Örneğin; *Streptokoklar* gibi oral gram (+) bakteri türlerinin *Aa*'nın epitel hücrelerine invazyonunu önlediği kültür ortamında gösterilmiştir.<sup>36</sup>

*Aa*'nın hücre zarında hücre dışı vezikülü içinde bakteriyosin ürettiği bilinmektedir. Diğer bakteriyosinlere benzer şekilde *Aa*'nın ürettiği bakteriosin de duyarlı mikroorganizmalar üzerinde hücrenin sitoplazmik zarına bağlanarak, zarı gözenekler oluşturup DNA, ribonükleik asit (RNA) ve bakterinin büyümesi için gerekli düşük molekül ağırlığına sahip hücre içi bileşenlerin hücre dışına sızmasına yol açmaktadır. *Aa*'nın bakteriyosini bazı *Streptokok* ve diğer *Actinomyces* türleri, hatta diğer *Aa* suşlarının büyümesini inhibe etmektedir.<sup>30</sup> Ancak bu toksinin diğer periodontopatojenlerin büyümesi üzerine etkisi çok azdır.<sup>37</sup>

*Aa* konak defansından kaçmasını sağlayan immün baskılayıcı iki önemli toksin üretmektedir. Bunlar lökotoksin A (LtxA) ve SDT'dir. LtxA insan polimorfonükleer lökosit (PMNL), monosit ve lenfositlerin membranında por oluşturmakta ve ozmotik basınç artışına bağlı hücre ölümüne yol açmaktadır. LtxA savunma hücrelerini etkisiz

hale getirerek bakterinin immün sistemden korunmasını sağlar.<sup>30, 33</sup> Bununla birlikte LtxA, kaspaz enziminin aktivasyonunu sağlamakta ve biyoaktif IL-1 $\beta$  üretimine neden olmaktadır. *Aa*'nın IL-1 $\beta$  sentez aktivasyonunu sağlayan ana faktörü LtxA'dır.<sup>38</sup>

Ökaryotik hücrelerde hücre bölünme siklusu G1, S, G2 ve mitoz aşamalarını içerir. S fazı DNA'nın çoğaltıldığı, G1 ve G2 fazı da sırasıyla DNA sentezinde ve sentezlenmiş DNA'nın kontrolünde gerekli enzimlerin üretildiği fazlardır. Oral bakteriler hücre mitoz döngüsünü durduran veya hızlandıran çeşitli proteinler üretmektedir. Bunlardan en bilineni ve üzerinde en çok çalışılan hücre siklusunu engelleyen SDT'tir. *Aa*'nın, SDT ile hücre döngüsünü engellediği; özellikle de G2 fazından mitoz geçişi durdurduğu bilinmektedir.<sup>33</sup> Xynogola ve ark.<sup>39</sup>'nın yaptığı bir çalışmada periodontal olarak sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu ve lokalize agresif periodontitis (LAP)'e sahip 95 bireyin sadece 14'ünde SDT'ye karşı anlamlı antikor seviyeleri gözlenmiş ayrıca kontrol ve LAP grupları arasında da fark bulunamamıştır. Aynı çalışmada LAP'lı bireylerde *Aa*'nın SDT'sine karşı önemli bir immün cevap gelişemediği de gösterilmiştir.<sup>39</sup> SDT gingival fibroblastlardan, periodontal ligament hücrelerinden ve T lenfosit hücrelerden Reseptör Aktivator of Nuclear factor kappa-B Ligand (Nükleer faktör kappa-B ligandın reseptör aktivatör) (RANKL) salınımına neden olmaktadır.<sup>40</sup> Bununla birlikte SDT aktive olmuş makrofajlardan nitrik oksit üretimini de engellemektedir.<sup>41</sup>

JP2 klonu *Aa*'nın serotip b'sine ait olup yüksek lökotoksik aktivite artışına ve demir kullanım mekanizmasında değişikliğe neden olmakta; Batı ve Kuzey Afrikalı genç bireylerde agresif periodontitiste periodontal ataşman kaybından sorumlu tutulmaktadır.<sup>33</sup> Fas'ta 700 adolesan üzerinde yapılmış longitudinal bir çalışmada 428 kişi 2 yıl sonra tekrar değerlendirilmiş, *Aa*'nın sadece JP2 klonunu taşıyan bireylerde *Aa*'nın JP2 klonunu taşımayan veya *Aa* bulunmayan bireylerden daha fazla klinik ataşman kaybı gerçekleştiği bulunmuştur. Aynı çalışmada en az klinik ataşman kaybı *Aa* taşımayan bireylerde görülürken, bu grubun %79.4'ünde hiç ataşman kaybı gözlenmemiştir.<sup>42</sup>

*Aa*'nın kemik yıkımına neden olan komponentleri LPS, ısı şok proteini 60, kapsül benzeri polisakkariti ve diğer hücre yüzeyiyle ilişkili proteinlerdir.<sup>33</sup> Bu komponentler osteoklast aktivasyonu ve proliferasyonu ile direkt yolla veya osteoblast



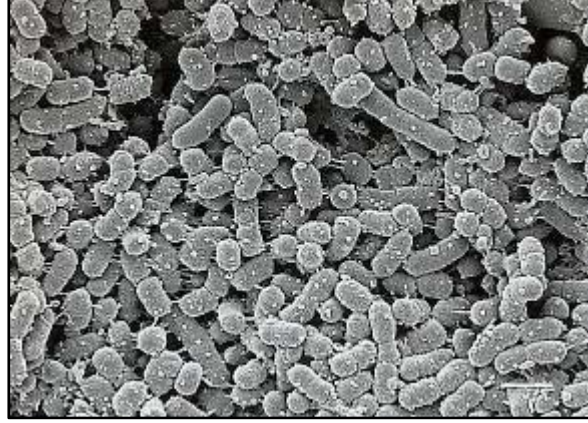
proliferasyonu ve aktivasyonunu engelleyerek indirekt yolla kemik rezorpsiyonu gerçekleştirmektedir. *Aa*'nın LPS'si osteoklast oluşumunu hızlandırmakta; gingival dokuya LPS enjeksiyonu ise kemik yıkımına neden olmaktadır.<sup>30</sup> *Aa*, T ve B lenfositlerden RANKL üretimini ve dendritik hücrelerin osteoklastlara dönüşümünü uyarmaktadır. *Aa*'ya karşı gelişen konak cevabı ile kemik yıkımı arasında yakın bir ilişki görülmektedir.<sup>33</sup> *Aa*'nın nötrofil kemotaksisini inhibe ettiği, B lenfositlerden IgM ve IgG üretimini önleyen immünsupresif faktör protein sentezini indüklediği ve böylece konak immün savunmasını baskıladığı ayrıca *Pg*'ye benzer şekilde kollejenaz üretilip, kollajenin yıkımına yol açtığı bilinmektedir.<sup>30</sup>

Çok sayıdaki gözlemsel çalışmada, agresif periodontitis teşhisi konulmuş genç bireylerde *Aa* saptanmış olup özellikle LAP'ta periodontal lezyonların %95'inden izole edilmiştir.<sup>33, 43, 44</sup> *Aa*, oral floranın daimi üyelerindedir ve periodontal olarak sağlıklı olgularda da bulunabilir. Vietnam'da yapılmış bir çalışmada sağlıklı bireylerde oral florada %78 oranında *Aa* izole edilmiş ve yaygınlığının ırksal farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir.<sup>45</sup>

*Aa*'nın birçok virülans faktörlerine sahip olması, LAP ve bazı kronik periodontitis lezyonlarında florada sıklıkla artış göstermesi ve başarılı tedaviler sonrası ortamdaki uzaklaştırılabilmesi veya florada baskılanabilmesi *Aa*'yı Socransky kriterlerine göre olası bir periodontopatojen yapmaktadır.<sup>24</sup>

#### 2.4.2. *Porphyromonas gingivalis*

*Pg*, gram (-), zorunlu anaerob, asakkarolitik, hareketsiz küçük bir çomaktır (Bkz. Resim 2). Kanlı agarda düzgün kabarcıklar şeklinde görülür. Beyaz/krem renkli koloniler 4-8 günde çevreden merkeze doğru siyahlaşmaya başlayarak siyah pigment kolonileri oluşturur. *Pg*'nin dış membran vezikülleri, fimbriyaları ve kapsülü vardır. Kapsül, bakterinin sanki bir konak hücresiymiş gibi tanınmasına neden olarak, onu hem fagositozdan korur, hem de immünolojik olarak görünmez yapar.<sup>28</sup> *Pg*'nin vezikülleri proteazlar ve LPS içerir. *Pg* vezikülleri sayesinde eritrositlere, diğer bakterilere ve hidroksiapatit yüzeylere tutunabilmekte fimbriyalarıyla ise tüm yüzeylere yapışabilmekte ve kolonize olabilmektedir.<sup>13, 28</sup>



**Resim 2:** *Pg*'nin elektron mikroskop görüntüsü.

Resim kaynağı: <http://wishart.biology.ualberta.ca/BacMap> sitesinden alınmıştır.

*Pg* epitelyal hücrelere, fibroblastlara ve diğer bakterilere yapışmasını ve kolonizasyonunu sağlayan, bakterinin virülansında dolayısıyla periodontal yıkımda oldukça önemli rolü bulunan fimbriyalara sahiptir. *Pg* tükürük kaplı diş yüzeylerinde bulunan prolinden zengin proteinlere fimbriyaları ile tutunmaktadır. Fimbriyalar tüm hücre yüzeyinde majör ve minör olarak iki farklı tipte bulunur.<sup>28</sup> *FimA* *Pg*'nin majör fimbriya proteini olup *FimA*'yı kodlayan geni değişime uğramış *Pg* kolonisi ile oral gavaj yoluyla enfekte edilen ratlarda periodontal kemik kaybının daha az gerçekleştiği gösterilmiştir.<sup>46</sup>

*Pg*'nin dış membranında düşük molekül ağırlıklı proteinler bulunmaktadır. *Pg* 40-kDa'lık dış membran proteini sayesinde gram (+) ve gram (-) bakterilerle koagregasyon yapmaktadır. Dış membran proteini ayrıca *Pg*'nin konak savunma mekanizmasını aşarak konak dokularına doğru ilerlemesinde büyük öneme sahiptir.<sup>28</sup>

47

*Pg*'nin LPS'si üç bölgeden oluşmaktadır: Lipit A, çekirdek ve O antijen kısmı. Lipit A endotoksin üretiminden, O antijeni ise immünobiyojik aktiviteden sorumludur.<sup>28</sup> *Pg*'nin Lipit A'sı sitokin üretimini uyararak konak immün cevabını indirekt stimüle ederken Darveou ve ark.<sup>48</sup> ise *Pg*'nin LPS'sinin endotelial hücrelerle etkileşime girerek enflamatuvar cevabı direkt stimüle ettiğini de göstermişlerdir.

*Pg*'nin LPS'si alternatif kompleman yolağını aktive etmektedir ancak kapsülü aktivasyon yapmamaktadır. Kalın kapsül bakteri LPS'sini maskeleyerek kompleman kaskadı aktivasyonunu engeller ve böylece bakterinin opsonizasyon ve fagositozdan korunması sağlanır.<sup>28</sup>

*Pg* epitel bariyeri aşarak doğrudan derin dokulara ve hücrenin içinde girebilmekte, hücrenin hareket ve çoğalma gibi yaşamsal fonksiyonlarını bozabilmektedir.<sup>28, 47</sup> *Pg*'nin gingival fibroblastların ve osteoblastların içine girerek hücrenin fonksiyonlarını bozabildiği ve hücrelerin apoptozisine yol açtığı gösterilmiştir.<sup>49</sup> *Pg*'nin hücre içi yerleşimi onu konak immün savunma sisteminden ve antibiyotiklerin etkilerinden korumaktadır.<sup>28</sup>

*Pg* çeşitli proteolitik enzimler üretir. *Pg* kaynaklı proteazlar, kollajenazlar, fibrinolizin ve fosfolipaz A periodonsiyumun yüzeyel tabakalarını, DOS ve çevre dokulardaki antikorları ve kompleman proteinlerini parçalayabilir. Bu sayede *Pg*, konağa ait antimikrobiyal moleküllerin etkisini engellemiş olur. *Pg* kollajenaz ve tripsin-benzeri enzimlere sahiptir. Bu enzimlerle kollajeni, fibronektini ve Ig'leri parçalar. *Pg*'nin ürettiği arjinin (gingipain RgpA ve gingipain RgpB) ve lizin (gingipain Kgp) proteinazları sistein proteinazları olup, bu proteinazların tümüne birden gingipain denilmektedir.<sup>28</sup> Gingipainler kompleman sistemini aktive etmekte, C5'i C5a'ya dönüştürerek lokal C5a artışına ve lökositlerdeki C5a reseptörünün aktivasyonuna neden olmaktadır. Genetik olarak modifiye edilmiş C5a reseptörü olmayan farelerde *Pg* ile oral inokulasyonu takiben deneysel periodontitis oluşturulmaya çalışılmış ancak bu farelerin alveoler kemik yıkımına dirençli olduğu gözlenmiştir.<sup>50</sup>

Gingipain'in kompleman sistemini aktive etmesi diş eti damar geçirgenliğinde artışa böylece periodontal olarak hastalıklı bölgelerde DOS artışına yol açmaktadır. Gingipainler ayrıca PMNL'ler için kemotaktik olup potansiyel doku ve kemik yıkımından sorumlu konak hücrelerinde artışa neden olmaktadır. Gingipainler kırmızı kan hücrelerinde direkt hemolize neden olduğu gibi ayrıca fibrinojeni parçalayarak indirekt yoldan da konak dokularında kanamaya yol açar. Gingipainin periodontal cepte sondalamada kanama ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda gingipainler kinin/kallikrein yolağını direkt aktive etmesi nedeniyle hücre dışı

proteoliz ve ağrı oluşumundan da sorumlu tutulmaktadır.<sup>47</sup> Periodontitis gelişiminde gingipainlerin rolü hayvan çalışmaları ile in vivo olarak gösterilmiştir. Gingipainlerin inaktivasyonu veya gingipaine karşı konak immünizasyonu *Pg*'nin virülans kapasitesini azaltmakta böylece *Pg* ile gelişen enfeksiyon, doku ve kemik yıkımı azalmaktadır.<sup>51, 52</sup>

IL-8 proenflamatuvar, kemotaktik bir sitokindir. *Pg* epitelyal hücrelerden salınan IL-8'i inhibe ederek, nötrofillerden kurtulabilme yeteneğine sahiptir. Sonuçta, ortamda daha fazla nötrofil toplanmasına neden olacak kompleman kökenli kemotaktik faktörlerin birikimi engellenir ayrıca *Pg*'nin başlangıç kolonizasyonu için uygun ortam yaratılmış olur. Bu sayede hem bu proteolitik enzimleri üreten bakterilerin, hem de yakın çevrede bulunan diğer bakterilerin fagositozunun baskılanması sağlanır.<sup>53</sup>

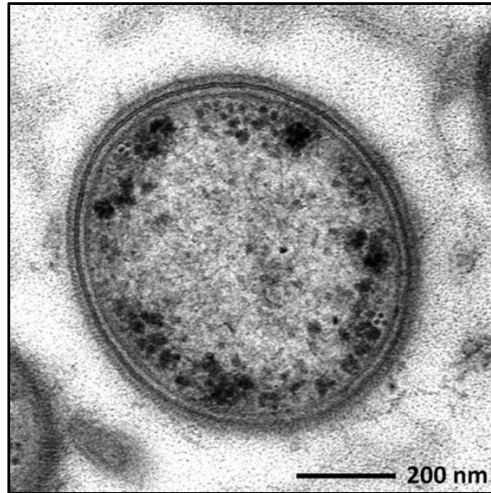
Periodontopatojen mikroflorasındaki disbiyotik değişiklikler mikroorganizma-konak arasındaki dengenin bozulmasına yol açar. Proenflamatuvar bir bakteri olan *Pg* mikroorganizma-konak dengesini indirekt ve direkt yolla etkileyebilmekte ancak bu etkisini daha çok konak immün sistem bileşenlerini bozarak indirekt yolla gerçekleştirmektedir. *Pg*'nin biyofilmin büyümesi ve gelişimini değiştirmek suretiyle periodonsiyumdaki normal mikroorganizma-konak etkileşiminde yıkıcı değişiklikleri tetiklediği ve doğal immün cevabı etkilediği düşünülmektedir. Hajishengallis ve ark.<sup>54</sup> yaptıkları çalışmada toplam bakteri miktarının çok düşük olduğu (%<0.01) kolonizasyon seviyelerinde *Pg*'nin periodontitis gelişimini indüklediğini, oral kommensal bakterilerin sayı ve iletişim organizasyonunda önemli değişikliklere yol açtığını göstermişlerdir. Yine aynı çalışmada *Pg*'nin mikropsuz (germ-free) farelerde kolonize olabilmesine rağmen tek başına alveoler kemik yıkımını sağlayamadığı, C5a ve C3a reseptöründen yoksun farelerde de *Pg* ile inokülasyon sonrası kemik yıkımının gerçekleşmediği gözlenmiştir.<sup>54</sup> Gingipain aşısı ile spesifik immünizasyon yapılmış şebekelerde, aşılamanın subgingival *Pg* miktarının ve total bakteri yükünün azalmasına yol açtığı ve kemik yıkımına karşı koruyucu etki bulunduğu gösterilmiştir.<sup>55</sup>

*Pg* kronik periodontitisle kuvvetli ilişkisi bulunan olası bir periodontopatojendir. Periodontitis varlığında subgingival plaktaki *Pg* düzeyi sağlıklı alanlara göre önemli oranda daha fazla bulunmaktadır. Bu durum *Pg*'nin periodontal

hastalığın patogenezinde önemli rol oynadığını göstermektedir. *Pg* kronik periodontitiste özellikle derin periodontal ceplerden alınan subgingival plak örneklerinden sıklıkla izole edilmekte ve kronik periodontitisin ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır.<sup>56, 57</sup> *Pg*, insanlarda aktif periodontitiste toplam koloninin çok küçük bir kısmını oluşturmasına rağmen ilerlemiş kemik kaybıyla anlamlı derecede pozitif bir ilişki sergilemektedir.<sup>57</sup>

#### 2.4.3. *Tannerella forsythia*

*Tf*, Socransky ve ark.<sup>19</sup> tarafından tanımlanan kırmızı komplekse ait, gram (-), zorunlu anaerop ve hareketsiz fusiform bir çomaktır (Bkz. Resim 3). *Tf* ilk kez 1970'lerin ortalarında Forsyth Enstitüsü'nde, ileri periodontitisli hastaların plak örneklerinde tespit edilmiş, Tanner ve ark.<sup>58</sup> tarafından fusiform bir *Bacteroides* olarak tanımlanmıştır. Daha sonra birçok periodontitis formundan kültür yöntemi veya kültürden bağımsız yöntemler kullanılarak tespit edilmiştir. *Tf*'nin kültür ortamında üremesi sadece anaerobik koşullarda çok yavaş (yaklaşık 14 gün) gerçekleşmekte ve üremesi *Fn* gibi diğer türlerden elde edeceği belirli büyüme faktörlerine (N-asetilmuramik asit gibi) bağlı olmaktadır.<sup>13</sup>



Resim 3: *Tf*'nin elektron mikroskop görüntüsü.<sup>59</sup>

*Tf* LPS, tripsin benzeri proteaz, *Bacteroides* surface protein (yüzey proteini) A (BspA) gibi virülans faktörlerine sahiptir. *Tf*'nin yüzey bileşenlerinden lösinden

zengin BspA'sı bakteriyel yapışma ve invazyonda görev alır ayrıca *Tf*'nin diğer elemanlarla ve bakterilerle protein-protein etkileşimini sağlar. BspA *Tf*'nin ESM'de fibronektin ve pıhtılaşma faktörü olan fibrinojene bağlanmasına aracılık eder.<sup>47</sup> BspA *Tf* için kemik yıkımı ile ilişkili önemli bir virülans faktörüdür. Sharma ve ark.<sup>60</sup> tarafından farelerde rekombinant BspA protein immünizasyonunun alveoler kemik kaybına karşı koruyucu etkide bulunduğu gösterilmiştir.

*Tf*'nin LPS'si Lipid A komponenti içermediği için antijenik özelliği bulunmamaktadır. *Tf* asakkarolitik bir bakteri olduğundan proteolitik enzimlerle konak proteinlerini parçalayarak büyümesi için ihtiyacı olan peptid ve serbest aminoasitleri temin eder. Hücre yüzeyindeki tripsin benzeri proteazlar diğer proteolitik enzimlerin oluşturduğu büyük proteinlerin küçük peptidlere parçalanmasında, *Tf*'nin nötrofil ve fibroblastlara tutunmasında rol oynamaktadır. *Tf* asakkarolitik bir bakteri olmasına rağmen birçok glikozidaz enzimi salgılayarak tükürük, DOS ve periodontal dokulardaki kompleks oligosakkarit ve proteoglikanları hidrolize edebilir. Apoptotizisi indüklemesi, epitel hücrelerine invaze olabilmesi *Tf*'nin patojen özellikleri arasındadır. *Tf* yüzey bileşenlerinden olan lipoproteinleri sayesinde konak hücrelerinden proenflamatuvar sitokin salınımını ve konak hücrelerinde apoptozisi tetiklemektedir.<sup>61</sup>

*Tf*'nin LPS'si Lipid A komponenti içermediği için antijenik özelliği bulunmamaktadır. *Tf* asakkarolitik bir bakteri olduğundan proteolitik enzimlerle konak proteinlerini parçalayarak büyümesi için ihtiyacı olan peptid ve serbest aminoasitleri temin eder. Hücre yüzeyindeki tripsin benzeri proteazlar diğer proteolitik enzimlerin oluşturduğu büyük proteinlerin küçük peptidlere parçalanmasında, *Tf*'nin nötrofil ve fibroblastlara tutunmasında rol oynamaktadır. *Tf* asakkarolitik bir bakteri olmasına rağmen birçok glikozidaz enzimi salgılayarak tükürük, DOS ve periodontal dokulardaki kompleks oligosakkarit ve proteoglikanları hidrolize edebilir. Apoptotizisi indüklemesi, epitel hücrelerine invaze olabilmesi *Tf*'nin patojen özellikleri arasındadır. *Tf* yüzey bileşenlerinden olan lipoproteinleri sayesinde konak hücrelerinden proenflamatuvar sitokin salınımını ve konak hücrelerinde apoptozisi tetiklemektedir.<sup>61</sup>

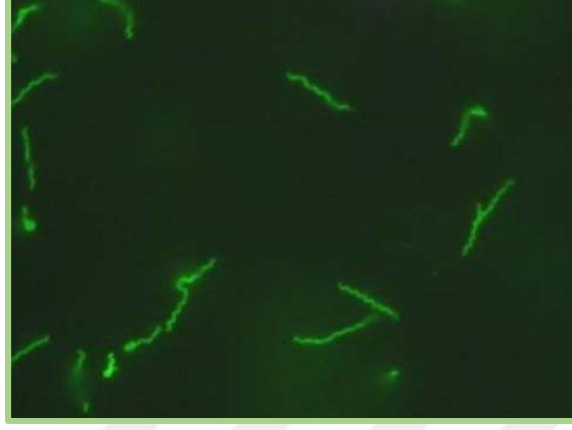
Yüzey ekzopolisakkaritleri *Tf*'nin biyofilm oluşturmalarını inhibe ettiğinden *Tf* tek bir tür olarak genellikle biyofilm oluşturmamakta ancak *Fn* ile birlikte sinerjik biyofilm oluşturabilmektedir.<sup>61</sup> Takemoto ve ark.<sup>62</sup> in vitro kültür ortamında *Tf*, *Pg* ve *Fn*'yi tek başına veya *Tf*'yi *Pg* veya *Fn* ile birlikte üreterek elde ettikleri bakteri süspansiyonunu tavşanlarda deri altına inoküle ettikleri çalışmada *Tf*, *Pg* veya *Fn*'nin tek başına inokülasyonu sonrası apse oluşumu gözlenmezken *Tf*'nin *Pg* veya *Fn* ile birlikte inoküle edilmesi ciddi apse oluşumuyla sonuçlanmış, *Tf*'nin patojenik potansiyelinin diğer bakterilerle sıkı ilişkide olduğu belirtilmiştir. Zijngel ve ark.<sup>63</sup> ise yakın zamanda yaptıkları bir çalışmada *Tf*'nin subgingival plağın ara tabakasında yer aldığı, *Pg*'nin üst tabakada mikrokoloniler halinde bulunduğunu ve *Treponemaların* dış tabakada epitele yakın konumda bulunduğunu göstermiş olup, *Pg*'nin kolonize olabilmesi için *Tf*'nin öncülüğüne ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir.

*Tf*, sağlıklı ve periodontitisli bireylerin diş eti epitel dokusunda tespit edilmiştir.<sup>64</sup> Kronik periodontitiste, sağlıklı kontrollere göre prevalansında artış görülmektedir.<sup>65-67</sup> Cep derinliğinde artışla birlikte *Tf* prevalansında artış olmaktadır.<sup>20, 68</sup> *Tf* periodontal olarak sağlıklı bireylerde genellikle tespit edilememekteyken periodontal olarak hastalıklı bireylerin sağlıklı bölgelerinde düşük yoğunlukta bulunabilmektedir.<sup>68</sup> Bununla birlikte düşük frekans ve az miktarda da olsa sağlıklı kişilerde bulunduğunu gösteren az sayıda çalışma vardır.<sup>64, 66</sup> VanWinkelhoff ve ark.<sup>66</sup> alveoler kemik kaybı bulunmayan sağlıklı bölgelerin %47'sinde *Tf*'yi tespit etmiştir. Sondalamada kanama görülen ceplerde, kanama görülmeyen ceplere kıyasla artmış *Tf* seviyelerinin bulunması, *Tf*'nin periodontal hastalık aktivitesiyle ilişkili olabileceğini göstermektedir.<sup>47</sup>

#### 2.4.4. *Treponema denticola*

*Td* oral spiroketlerdendir. Spiroketler spiral şekilli, ince, uzun, zorunlu anaerob, oldukça hareketli gram (-) bakterilerdir. Işık mikroskopunda görülmeleri ve kültürde üretilmeleri zordur. Karanlık alan ve floresan mikroskopunda görülürler (Bkz. Resim 4). *Td*'nin en dışta glikozaminoglikandan oluşan bir dış membranı ve peptidoglikan içeren bir hücre duvarı vardır. Dış membran ile hücre duvarı arasında bakteriyi boylu boyunca sararak bakteriye tipik rotasyonel hareketini yaptıran

endoflajella veya diğer adıyla aksiyel fibril bulunur. Aksiyel fibril *Td*'nin DOS içinde rahatlıkla hareket edebilmesini, hem epitele hem de bağ dokusuna penetre olmasını sağlar.<sup>13, 69</sup>



**Resim 4:** *Td*'nin floresan mikroskop görüntüsü.

Resim kaynağı: <https://www.sciencedaily.com/releases/2012/02/120207202628.htm>  
internet sitesinden alınmıştır.

Ekstrasellüler proteolitik aktivitesi, aminoasitlerin kompleks anaerobik fermentasyonu ve toksik metabolit üretmesi, dış membran veziküllerine sahip olması *Td*'nin diğer kırmızı kompleks bakterilerle ortak yanını oluştururken, hareketli bir mikroorganizma olması ve çevresel uyaranlara kemotaksi ile cevap verebilmesi onu *Pg* ve *If* den ve diğer olası periodontopatojenlerden ayrı kılmaktadır.<sup>69, 70</sup> Ayrıca *Td*, diğer gram (-) bakterilerden farklı olarak LPS üretememekte, ancak dış membranı LPS aktivitesi gösteren lipooligosakkarit sentezlemektedir.<sup>70</sup>

Majör kın proteini bir dış membran proteini olup, *Td*'nin önemli virülans faktörlerindedir. Bu protein yüzeyden çıkıntı yapan bir porin özelliği taşımakta ve *Td*'nin farklı konak proteinlerine bağlanması ve kolonizasyonunda rol almaktadır.<sup>69</sup> *Td*'nin majör kın proteini ile *Fn*'nin galaktoz bağlayıcı leptin reseptörünün bağlanmasıyla *Td* ile *Fn* arasında zayıf bir koagregasyon gerçekteşirken *Td*, *Pg* ile daha güçlü ve çeşitli tipte bağlantı kurmaktadır. Lösinden zengin tekrar proteini *Td*'nin *If*'ye bağlanmasından, epitele invazyonundan ve biyofilmin olgunlaşmasından sorumludur.<sup>70</sup>



Hareketli bir bakteri olan *Td*'nin biyofilmin en dış tabakasında, yapışık olmayan plakta, diş eti epiteline yakın bir bölgede yer aldığı gösterilmiştir.<sup>63</sup> *Td* konak epitel hücrelerinin salgıladığı antimikrobiyal peptidlerin (beta defensin vb.) bağlanmasını önleyerek doğal immün cevaptan kaçabilmekte ve epitelyal hücrelerin içine girebilmektedir.<sup>70</sup> Ayrıca *Td*'nin dentisilin isimli enzimi hücreler arası adezyon proteinlerini parçalayarak *Td*'nin epitelyal tabakaya penetrasyonunu sağlamakta<sup>71</sup> ve hücreler arası konak sinyal yollarını bozarak hastalığın ilerlemesine katkıda bulunmaktadır.<sup>70</sup>

Kırmızı kompleks bakteriler subgingival plakta çoğunlukla birlikte bulunmaktadır ve *Pg*'nin subgingival plakta varlığı ve kolonizasyonu *Td*'ye bağlıdır.<sup>70</sup> *Pg* ve *Td*'nin virülansları hastalık oluşumunda sinerjik etkide bulunmaktadır. *Td*'nin subkutanöz mono enfeksiyonu lokal apse oluşumuna yol açarken <sup>72</sup> *Pg* ile birlikteliğinde daha ciddi enfeksiyon ve yayılım gösteren ülseratif lezyonların geliştiği belirtilmiştir.<sup>73</sup> Bir başka çalışmada tek tek *Pg*, *Td* ve *Tf* ile enfekte edilmiş ratlarda bu üç bakterinin 1:1:1 oranında karışımıyla enfekte edilen ratlara göre daha az alveoler kemik kaybı geliştiği de gösterilmiştir.<sup>74</sup> *Pg* ve *Td*'nin subgingival plakta varlığı periodontal yıkımın öngörülebilmesini sağlar.<sup>75</sup> *Pg* ve *Td* arasındaki simbiyotik ilişki proteinin parçalanması, besin eldesi ve büyümenin sağlanmasında karşımıza çıkmaktadır. *Pg* ve *Td*'nin fibrinojeni hidrolize etmede sinerjik hareket ettikleri ve vasküler bozulma, kanama ve enflamasyona yol açarak doku tamirini geciktirdiği gösterilmiştir.<sup>76</sup> Ayrıca *Td* ürettiği metabolik son ürünlerle biyofilm içindeki bakteriyel türlerin kompozisyonunu etkilemekte ve periodontal dokular için toksik etki yaparak periodontal hastalığın ilerlemesine katkıda bulunmaktadır.<sup>70</sup>

*Td* kronik periodontitis, nekrotizan ülseratif gingivitis ve akut perikoronitis lezyonlarından izole edilmiştir.<sup>77</sup> Sağlıklı bireylerde normal ağız florasında az miktarda bulunmaktadır. Subgingival plakta geç kolonize olan *Td* özellikle derin periodontal ceplerle ilişkide bulunmuştur.<sup>70</sup> *Td*'nin hücre içinde güvenli bir şekilde kalabilmesi ve çoğalabilmesi onu CPT'ye karşı dirençli kılmaktadır.<sup>70</sup>

#### 2.4.5. *Fusobacterium nucleatum*

*Fn*, gram (-), anaerop, spor oluşturmeyan, hareketsiz, iğsi şekilli, çomak bir bakteridir (Bkz. Resim 5). Anaerobik bir mikroorganizma olmakla beraber %6 oksijen varlığında da canlılığını sürdürebilmektedir. *Fn* porin, dış membran proteinleri ve LPS gibi virülans faktörlerine sahiptir. Diğer gram (-) bakteri gruplarının yapısal özelliklerine benzer şekilde *Fn*'nin dış membranı LPS, fosfolipid, lipoprotein ve proteinlerden oluşmaktadır. *Fn*'nin bir diğer önemli virülans faktörü: değişken kalınlıkta olan mukopolisakkarit kapsülüdür. *Fn*'nin LPS'si lipid A komponenti ihtiva ettiğinden endotoksin aktivitesi göstermekte ve B hücre çoğalması, poliklonal B hücre aktivasyonu, kompleman aktivasyonu, makrofajlardan IL-1 salınımı ve kemik yıkımını başlatması gibi konak yanıtları oluşturabilmektedir.<sup>78</sup>



**Resim 5:** *Fn*'nin gram (-) boyanan kültür görüntüsü.

Resim kaynağı: [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Fusobacterium\\_nucleatum](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Fusobacterium_nucleatum)  
internet sitesinden alınmıştır.

Çok yönlü adezyon özelliklerinden ötürü *Fn* pek çok konak proteinine bağlanabilme özelliğine de sahiptir. *Fn* epitel hücrelerine tutunabilir ve epitel dokuya invaze olabilir. Dış membran proteinleri *Fn*'nin epitel gibi dokulara invazyonunda, diğer bakterilerle koagregasyonunda etkili olduğu gibi güçlü immünolojik aktivite göstermesinde de büyük öneme sahiptir.<sup>78, 79</sup>

*Fn* dental plağın olgunlaşması ve devamlılığında anahtar role sahiptir. *Fn* erken kolonize olan bakteriler ile geç kolonize olan bakterilere bağlanarak bu bakterilerin

birbirlerine kolonizasyonunda köprü görevi görmekte, tüm kolonizerlerin dış ve epitelyal yüzeylere yapışmasına da aracılık etmiş olmaktadır.<sup>79</sup> *Fn*, birçok farklı türü aynı anda bağlayabilecek ve türe özel koagregasyon gerçekleştirebilecek membran yapısına sahiptir. Erken kolonizer olan oral streptokoklara dış membran proteinleri, *Pg*'ye ise T18 dış membran proteini ile bağlanarak farklı türlerin koagregasyonunu sağlamaktadır. Bununla birlikte *Fn* diğer füzobakterilerle tür içi koagregasyon yapmamakta, hareketsiz bir bakteri olduğundan büyümesi için gerekli metabolik çevreyi tür içi hücre-hücre etkileşimiyle oluşturmaktadır.<sup>78, 80</sup>

*Fn* sahip olduğu fosfolipaz C enzimi ile konak doku yıkımına sebep olmaktadır.<sup>79</sup> *Fn*, serin proteaz enzim aktivitesiyle konak ESM bileşenlerinden fibrinojeni, fibrini, tip 1 ve tip 4 kollajeni yıkıma uğratarak konak dokularında hasara neden olduğu gibi plazma proteinaz kaskadı ve kan pıhtılaşma sistemini inaktive ederek konak enflamatuvar sistemini etkilemektedir.<sup>78, 79</sup>

*Fn* glikozdan enerji sağlamamakta ancak glikozu hücre içi moleküllerinin biyosentezinde kullanmaktadır. *Fn*'nin glikoz ve peptonu fermente etmesiyle ortaya çıkardığı bütirik asit ana metaboliti olup diğer toksik metabolitleri arasında bütirat, propiyonat ve amonyak bulunmaktadır. Bu metabolitler periodontal dokularda irritasyon yapmakta ve *Fn*'nin periodontal hastalık virülansında rol oynamaktadır.<sup>78</sup>

*Fn*'nin kırmızı komplekse ait olası periodontopatojenlere özgü immünosupresyon etkisi olduğu görülmüştür. İmmün hücrelerin eliminasyonu diğer patojenik bakterilerin yerleşmesi, periodontal hastalığın başlatılması ve ilerlemesi için gerekli bir mekanizmadır. *Fn*, B ve T hücre fonksiyonunu inhibe etmekte ve PMNL'lerde apoptozisi tetiklemektedir. Nükleer faktör kapp B ( $\text{Nf-}\kappa\text{B}$ ) sağlıklı oral dokuların devamlılığının sağlanmasında ve enflamasyonda IL-8 gibi proenflamatuvar sitokinlerin salınımında kritik role sahip bir transkripsiyonel faktördür. *Fn*, doğrudan sitokin ve kemokin salınımını başlatarak ve  $\text{Nf-}\kappa\text{B}$  fonksiyonunu baskılayarak immün cevabı etkilemektedir.<sup>79</sup>

Füzobakteriler insan ve hayvanlarda çeşitli enflamatuvar ve nekrotik durumlara yol açan fırsatçı patojenlerdir. *Fn*'ye çocuk ve erişkinlerin dental plak florasında sıkça rastlanır ve *Fn* gingivitis ve periodontitis ile yakından ilişkilidir.<sup>81</sup> *Fn*'nin birincil yerleşim yeri orofarinks olmasına rağmen vücudun pek çok bölgesine

yayımlı gösterebilirler. Ağız dışı enfeksiyonlardan izole edilen anaerobik oral patojenlerin en önemlisi olan *Fn* özellikle intrauterin enfeksiyonlarıyla ilişkide olup, prematüre, düşük doğum ağırlıklı bebek gibi hamilelik komplikasyonlarında rolü bulunmaktadır.<sup>79</sup> Oral floranın daimi üyesi olan *Fn*'nin ağız dışı birçok enfeksiyondan sorumlu olabileceği düşünülmektedir.<sup>78</sup>

*Fn* oral bakterilerin yalnızca küçük bir kısmını oluşturmasına ve yıkıcı periodontal hastalıkta diş kaybından sorumlu olmamasına rağmen periodontal hastalığın ağızda yayılmasıyla ve periodontal hastalıklı bölgelerin sayıca artmasıyla ilişkilidir.<sup>78</sup>

## ***2.5. Periodontopatojenlerin Tespitinde Kullanılan Mikrobiyolojik Yöntemler***

Periodontal yıkımın klinik ve radyografik olarak değerlendirilmesinin yanı sıra subgingival biyofilmin kompozisyonu, spesifik patojenlerin varlığı ve sayısının belirlenmesi periodontal hastalık tanısını destekleyebilir ve periodontal enfeksiyon kontrolü ile ilişkili spesifik tedavi planına yardımcı olabilir.<sup>82</sup> Periodontal hastalığın mikrobiyolojik tanısında bakteri türleri ve bu türlerin sayısının belirlenmesi amaçlanır. İncelenecek örnekler tükürük veya subgingival plak olabilir. Ancak tükürük oral mukoza, supragingival ve subgingival alanlar gibi ağızın farklı bölgelerindeki; farklı kompozisyona sahip plaklardan etkilenebilmektedir. Bu nedenle periodontal hastalığa ait bölgesel sonuçların alınması için mikrobiyolojik tanıda sıklıkla subgingival plak örnekleri kullanılmaktadır.<sup>83</sup>

Hastalardan elde edilen örnek içindeki mikroorganizmaların tespitinde çeşitli metotlar kullanılmaktadır. Bunlar: Bakteriyel kültür, direkt mikroskopi, immünoyagnostik metotlar, enzimatik analizler ve moleküler biyoloji teknikleridir.

### ***2.5.1. Bakteriyel kültür yöntemi***

Periodontolojide yeni bir mikrobiyal test yönteminin etkinliğini kıyaslamada kullanılan referans bir yöntem ve altın standarttır. Yeni türlerin ve antibiyotik hassasiyetinin tespiti yalnızca kültür yöntemi ile yapılabilmektedir. Bakteriyel

kültürde test edilecek bakterilerin canlı olması ve canlılıklarının korunması gerekmektedir. Subgingival plak örneklerindeki bakteriler anaerobik koşullarda üretilip çeşitli biyokimyasal ve fiziksel testlere tabii tutulduktan sonra kültür yöntemiyle farklı tür patojenlerin tespit edilebilmesi mümkün olmakla birlikte bu oldukça hassas ve zor bir işlemdir.<sup>84</sup>

### 2.5.2. Direkt mikroskopi yöntemi

Kültür yöntemine alternatif bir yöntem olarak canlı bakterilerin mikroskop altında tespitini ve incelenmesini sağlar. Karanlık alan mikroskobu özel kondansatörler yardımıyla ışığın objektifte yanlara dağılım göstermesi sonucu karanlıkta kalan preparat sahasındaki bakterilerin ışığı yansıtması ve parlaması prensibine göre çalışmaktadır. Faz kontrast mikroskobu ise şeffaf objeden geçen ışığın bakterilerde hücre içi yapıların ışığı kırma indislerinin farklı olmasından dolayı göze farklı aşama ve zıtlıkta yansıtması prensibine göre çalışmaktadır. Bu yöntemler plak örneğindeki bakterinin hem morfolojisini hem de hareketini doğrudan tespit etmemizi sağlamaktadır. Ancak bu yöntemler yalnızca canlı bakteriler üzerinde inceleme yapmaya izin vermekte ayrıca *Aa*, *Pg*, *Tf* gibi pek çok hareketsiz periodontopatojeni belirlemede başarılı olamamaktadır. *Treponema* türlerinin teşhisinde çok kullanışlı olsa da periodontal hastalık tanısında sık kullanılan yöntemler değildir.<sup>84</sup>

### 2.5.3. İmmünoyagnostik yöntemler

Bu yöntemlerin hedef mikroorganizmayı belirlemedeki ortak çalışma prensipleri antikörlerin spesifik bakteriyel antijenlere bağlanması ve spesifik antijen-antikor reaksiyonlarının tespiti esasına dayanmaktadır. Direkt ve indirekt immünofloresan mikroskopi, flow sitometri, Enzyme Linked İmmuno-Sorbent Assay (Enzimle işaretlenmiş immünosorbent testi) (ELISA), lateks aglütinasyon ve membran testi immünoyagnostik yöntemlerdendir. Direkt immünofloresan yönteminde floresan işaretleyici ile eşleşmiş antikorlar hedef bakteri antijenleriyle bağlanırken, indirekt immünofloresan yönteminde floresan işaretleyici ile eşleşmiş ikincil antikorlar birincil antijen-antikor kompleksine bağlanır. Direkt immünofloresan

mikroskopide genellikle *Aa* ve *Pg*'yi belirlemede kullanılmaktadır. ELISA yönteminde işaretleyici olarak radyoizotop yerine enzimatik reaksiyonla renk değişikliği oluşturan işaretleyici antikor kullanılmakta ve antijen konsantrasyonuna bağlı olarak değişen renk yoğunluğuna göre hesaplama yapılmaktadır. ELISA *Aa*, *Pg* ve *Pi*'nin muayenehane ortamında hızlı tespitine imkân tanımaktadır. Lateks aglütinasyon yöntemi lateks üzerinde bağlı bulunan antikorların bakteriyel antijenlerle birleşmesi ve çökeltinin izlenebilmesini sağlayan basit bir yöntemdir. Flow sitometri yönteminde ise bakteriyel antijenlerin alana özel ve floresan boyalarla etiketlenmiş antikorlarla bağlanması, oluşan antijen-antikor kompleksinin akışkan bir çözelti içinde tek sıra halinde yözdürülerek lazer ışığının yansıtılması ve optik saçılımın tespitini sağlayan oldukça karmaşık ve pahalı bir yöntemdir.<sup>84</sup>

#### 2.5.4. Enzimatik yöntemler

*Tf*, *Pg*, *Td* ve *Capnocytophaga* türlerinin hepsi tripsin benzeri enzime sahiptir. Bu enzimin renksiz N-benzol-*d* L-Arjinin-2-naftilamit (BANA) ile hidrolizi sonucu oluşan renk değişimiyle enzim aktivitesi ölçülebilmektedir. Bu amaçla plak örneklerinin klinikte hızlı bir şekilde incelenmesi için ticari kitler geliştirilmiştir. Ancak sınırlı sayıda periodontopatojeni tespit edebilmesi ve sağlıklı alanlarda da hatalı pozitif sonuçlar verebilmesi yöntemin dezavantajlarıdır.<sup>84</sup>

#### 2.5.5. Moleküler biyoloji teknikleri

##### *Nükleik asit problemleri*

Nükleik asit prob yöntemi spesifik mikroorganizmadan yapay olarak sentezlenmiş ve işaretlenmiş nükleik asit molekül (DNA veya RNA) probu'nun bakterinin tek iplikli nükleik asit eşleniği ile birleşmesi, birbirini bütünleyen iki DNA ipliğinin bir araya gelerek ikili sarmal biçimindeki nükleik asidi oluşturması yani hibridizasyon yöntemine dayanır. Yapay olarak çoğaltılmış DNA problemleri radyoaktif veya floresan işaretleyicilerle işaretlenir ve hedef DNA'ya bağlandığında görünür hale gelir. Bu yöntem oldukça spesifik olmakla birlikte farklı bakterilerin türdeş kromozom

dizilerine sahip olması nedeniyle hedeflenen bakteri dışındaki bakterilerin de tespitine neden olabilmektedir.<sup>84</sup>

#### *Dama tahtası DNA-DNA hibridizasyon yöntemi*

Socransky ve ark.'nın geliştirdiği bu yöntem tek bir testte oral florada bulunan 40'dan fazla mikroorganizma türünün çoklu hibridizasyonunu sağlamaktadır. Her bir türden sayıca 10<sup>4</sup>'den fazla hücrenin belirlenebilmesine imkân veren oldukça spesifik bir yöntemdir. Bu nedenle genel teşhis amacından çok epidemiyolojik ve ekolojik çalışmalarda kullanılmaktadır.<sup>84</sup>

#### *Polimeraz zincir reaksiyonu*

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) genel anlamda plak içindeki mikroorganizma veya örnekteki doku DNA'sının izolasyonunu takiben çift iplikli DNA'nın ısı ile tabi tutularak ayrılması ve tek iplikli DNA kalıbının oluşturulması (denatürasyon), tek iplikli kalıp DNA'da bulunan spesifik parçaların primer adı verilen kısa zincirli oligonükleotid dizisiyle bağlanması (annealing) ve DNA polimeraz enzimi yardımıyla uzatılması (elongasyon) ardından DNA kalıplarının tekrarlayan devirlerle çoğaltılması işlemidir. Tespit edilebilir hale gelen DNA çift zincir dizileri agaroz jel elektroforezinde kalitatif olarak görülebilir hale gelmektedir. Çoğaltılan spesifik ürünler hedef mikroorganizmanın varlığını göstermekte ve bakteriyel DNA dizilerinin tespitinde hızlı, kesin ve hassas sonuçlar ortaya koymaktadır. Ancak klasik PZR yöntemi, ilgili bakterinin varlığını tespit edilebilse de bakterinin niceliği hakkında bir bilgi vermemektedir. Klasik PZR yönteminde plato fazında elde edilen ürün miktarı standartlarla karşılaştırılarak ilk kopya sayısı tahmin edilebilmektedir. Ancak burada da belirli sayıda döngüyle çoğaltılan bakterilerin başlangıçta yeterli miktarda bulunmaması sonucu elektroforezde görülebilir seviyeye gelmesi her zaman mümkün olmayabilir. Çok az miktarda bulunan bakterilerin tam ve kesin sayısal bilgisine gerçek zamanlı PZR diğer adıyla kantitatif PZR yöntemiyle ulaşılabilen; bu yöntemle geleneksel PZR'ye göre daha spesifik sonuçlar elde edilmektedir. Gerçek zamanlı PZR yönteminde başlangıç DNA miktarı hesaplanabilmekte ve DNA'nın çoğalması ile artan floresan ölçümleri ilişkilendirip sayısal sonuçlar elde edilebilmektedir.<sup>83, 84</sup> Bunun için çift zincirli DNA'ya bağlanan floresan boyalar (Örn. SYBER Green 1) kullanılabileceği gibi daha spesifik bir tespiti imkân veren boyalar (Örn. TaqMan) da

kullanılabilmektedir<sup>85</sup>. Ters (Reverse)-transkriptaz PZR (RT-PZR) ise hücrelerden DNA'nın değil RNA'nın izole edilmesinin ardından RNA moleküllerinden sadece retrovirüslerde bulunan ters transkriptaz enzimiyle complementer (tamamlayıcı) DNA (cDNA) elde edilmesi sonrası PZR'de DNA'nın çoğaltılması prensibine dayanır. RT-PZR ile gerçek zamanlı PZR yapılabilmekte ve oldukça hassas sonuçlar elde edilebilmektedir.<sup>86</sup>

## **2.6. Kronik Periodontitiste Konak Cevabının Rolü**

Periodontitis MDP bakterilerince başlatılan; bakteri ve ürünlerine karşı konağın verdiği immünoeflamatuvar cevap sonucu gelişen; periodonsiyumun tüm yapılarını etkileyen yıkımla karakterize kompleks bir hastalıktır. Mikroorganizmalar patojenik etkilerini konak dokularını direkt yıkarak gösterebileceği gibi konak cevabını uyararak ya da değiştirerek endirekt olarak da gösterebilirler. Mikroorganizmayla etkileşen konağın savunma cevabı çoğunlukla genetik faktörlerce düzenlenmektedir. Genel olarak konak cevabı lokal enfeksiyonu hayatı tehdit edecek boyutlara ulaşmasını önleyecek biçimde sınırlamayı hedefler. Konak ile mikroorganizma arasındaki etkileşim ve mikroorganizmaya karşı konağın verdiği cevap hastalığın şiddetini belirlemektedir.<sup>25</sup> Periodontal hastalık, periodontal dokulara dışarıdan gelen patojenlerin yerleşmesinden ziyade konak ile kommensal birliktelikte bulunan mikroorganizmaların çoğalması ve patojenik hale gelmesi sonucu gelişmektedir.<sup>87</sup> Konak savunma sistemleri ise kommensal mikroorganizmaları ekolojik bir denge içinde tutmak için sürekli aktif durumdadır.<sup>88</sup>

Spesifik periodontal mikroorganizmalar bazı bireylerde subgingival florada tespit edilse bile o bireylerde periodontal hastalık her zaman gelişmemektedir. Bu durum konağın bağışıklık sisteminin verdiği yanıt ve konağın hastalığa yatkınlığının da periodontal hastalığın etiolojisinde rol oynadığını göstermektedir. Konak cevabı ve konağın hastalığa yatkınlığı çevresel, kazanılmış ve genetik faktörlerin etkisinde şekillenmektedir. Bu nedenle son yıllarda periodontal hastalık patogenezi anlamaya yönelik çalışmalar yoğun bir şekilde bu alana yönelmiştir.<sup>88</sup>



### 2.6.1. Periodonsiyumdaki immüno-enflamatuvar cevap

Enflamasyon; ısı, kimyasal ajan veya bakteriyel enfeksiyon gibi çeşitli uyarılara karşı konağın verdiği fizyolojik cevaptır. Herhangi bir enfeksiyon söz konusu olduğunda vücudun tüm bağışıklık sistemleri hasarı küçültmek ve dokuları onarmak için birbirleriyle uyumlu bir şekilde çalışmaktadır. Bu amaçla önce kanamanın durdurulması, akut enflamasyon ile immün hücrelerin bölgeye çağırılması, patojenlerin öldürülmesi, toksinlerin nötralize edilmesi, patojenlerin yayılmasının sınırlandırılması, ölü doku artıkları ve patojenlerin fagositozu sağlanır. Daha sonra enfeksiyon veya tamir sırasında ortaya çıkabilecek bir hasarı bastırabilmek amacıyla fibroblastların veya diğer doku hücrelerinin çoğalması ve ilgili alana hareketlenmeleri gerçekleşir. Bu aşamadan sonra kan pıhtılarının ortadan kaldırılması veya çözünür hale getirilmesi, ESM bileşenlerinin yeniden biçimlendirilmesi ve doku hücrelerinin yenilenmesi, normal yapı ve fonksiyonunun yeniden oluşturulması hedeflenir. Enflamasyonun akut fazı hızlı ve kısa sürelidir. Akut fazda doğal immün sistem elemanları, uyarıları ve bunların konağa vereceği hasarı sınırlamaya çalışmaktadır. Ancak akut fazda etken çözülemezse enflamasyon kronikleşerek fizyolojik olmayan; patolojik bir hal alır. Kronik enflamasyonda ise devreye kazanılmış immün sistem elemanları girer. Enflamasyonun çözülmesi ve kaybedilen veya hasara uğrayan dokuların tamir ve rejenerasyonunu içeren iyileşme sürecinde doğal ve kazanılmış immün sistem elemanları, birbirleriyle karmaşık bir ilişkide, birlikte rol almaktadırlar.<sup>89</sup>

Doğal immünite enfeksiyon ajanlarına karşı savunmanın ilk önemli hattını oluşturmaktadır ve doğuştan itibaren mevcuttur. Doğal immün yanıt uyarana (patojen) spesifik değildir; patojeni o anda ortadan kaldırmayı hedefler ve konağın patojenle tekrarlayan karşılaşmalarında her seferinde aynı cevap verilir. Doğal bağışıklık, hızlı olma avantajına karşın, özgünlükten yoksundur ve konağın zararına işleyebilir.<sup>25, 89</sup>

Doğal bağışıklık sistemi, yabancı maddelerin tanınmasını, çevrelenmesini (opsonizasyon), ortadan kaldırılmasını (fagositozis) ayrıca bağışıklık sistemi hücrelerinin bir araya toplanmasını, kompleman sisteminin ve kazanılmış bağışıklık sisteminin aktivasyonunu sağlar. Ağız epitelinin fiziksel özellikleri, salgıların biyokimyasal koruyucu özellikleri, enflamatuvar cevabın damarsal ve hücrel

olayları, doğuştan sahip olduğumuz fagositik özellikteki monosit/makrofaj ve nötrofiller ile antimikrobiyal peptidler doğal immünitinin yapıtaşlarıdır. Nötrofil, monosit ve makrofaj gibi fagositik hücreler, sitokinler gibi kimyasal mediyatörlerin salınımını tetikleyerek kompleman sistemi ve akut faz cevabı gibi sistemlerin aktive edilmesini sağlar. Bu sistemler, patojenlerin temizlenmesinde antikorlara yardım ettiği gibi, patojenleri işaretleyerek onların diğer hücreler tarafından fark edilmelerini, tanınmalarını ve yok edilmesini sağlar.<sup>89,90</sup> Patojeni elimine etmede doğal bağışıklık sistem elemanları yetersiz kalırsa devreye kazanılmış bağışıklık sistem elemanları girmektedir. Kazanılmış bağışıklık sisteminin en önemli elemanları T ve B lenfositlerdir. Patojen ve antijenler, B lenfositlerin Ig'leri aracılığıyla direkt olarak tanınıp bağlanabilmektedir. Bununla birlikte özellikle peptid yapıdaki antijenlerin, antijen sunan hücrelerce T hücrelerine sunulması gerekmektedir.<sup>89</sup> Makrofajlar, dendritik hücreler ve B lenfositler gibi antijen sunan hücreler tarafından işlenen antijenler temel doku uygunluğu bileşeni (Major histocompatibility complex) sınıf II molekülleri ile birlikte antijene duyarlı yardımcı T lenfositlerine (Th)'ne sunulurlar. Bundan başka sitotoksik T lenfositleri ise hücre yüzeyinde bulunan temel doku uygunluğu bileşeni sınıf I molekülü ile birleşerek hücre içi patojenlerin ortadan kaldırılmasında rol alır. Hücresel immün cevaptan sorumlu T lenfositler ayrıca antijene karşı B hücrelerinin antikor üretimine, humoral immün cevabın gelişmesine de katkı sağlamaktadır.<sup>89</sup> Kazanılmış bağışıklık sistem elemanlarının en önemli fonksiyonları; sunulan antijenleri tanımak, spesifik patojenleri elimine etmede uygun cevabı oluşturmak ve sonraki enfeksiyon oluşum durumlarında patojenin antijen işaretini hatırlamaktır. Kazanılmış immün yanıt, etken patojenlere karşı konakta gelişen spesifik bir cevap olduğu için daha etkilidir ve patojen veya antijenle sonraki karşılaşmalarda daha hızlı ve etkin bir cevap verilmesini sağlar.<sup>89</sup>

### *2.6.2. Periodontal hastalık patogenezi*

Periodonsiyumu etkileyen iki önemli hastalık vardır: sadece diş eti epiteli ve bağ dokusu gibi yumuşak dokuların etkilendiği gingivitis ve tüm diş destek dokularında enflamasyon, ileri ataşman kaybı ve kemik yıkımıyla sonuçlanan periodontitis. Gingivitisle başlayan fizyolojik ve biyokimyasal olayların konak

direncinin azalmasıyla periodontitise ilerlediği bilinmekle birlikte gingivitisden periodontitise geçiş mekanizması tam olarak bilinmemektedir.<sup>91</sup>

Gingivitis histopatolojik özelliklerine göre 3 aşamalı bir patogeneze sahiptir. Gingivitisin başlangıç, erken ve yerleşik diş eti lezyonunu takiben periodontitise geçiş aşaması olarak adlandırılan ileri lezyonu tanımlanmıştır.<sup>91</sup>

Plak akümülyasyonundan yaklaşık 2-4 gün sonra başlangıç lezyonu gelişmektedir. Bu aşamada klinik bir enflamasyon yoktur ancak biyofilme bağlı dokuda histolojik açıdan değişiklikler gözlenmektedir. Başlangıç lezyonunda periodonsiyumdaki yerleşik lökositler ve endotel hücreleri baskındır. Bakterilerin metabolik ürünleri bağlantı epiteli hücrelerinden sitokin salınımını ve nöroendokrin hücrelerden nöropeptid üretimini stimüle ederek lokal kan damarlarında vazodilatasyona neden olur. Sitokin ve kemokinler, nötrofillerin damar duvarını aşarak enflamasyon alanına gelmesini sağlar. Lökositlerin sulkus içine hareketi ile DOS'da artış görülmektedir.<sup>91</sup>

Plak akümülyasyonunun engellenmediği durumda 4-7 gün içinde erken lezyon gelişmektedir. Erken lezyonda, bağ dokusunda sayıca artan nötrofillere ilave lenfositler de (özellikle T lenfositler) bulunmaktadır. Kompleman proteinlerinin (C3a, C5a, C3b vd.) aktive olması damarsal geçirgenlik artışına, kemotaksi ve opsonizasyonun uyarılmasına, PMNL'lerden lizozomal enzimlerin açığa çıkmasına ayrıca araşidonik asit metabolizmasında lipooksijenaz yolunun uyarılarak diğer iltihabi mediyatörlerin salınımına yol açar. Kompleman sistem aktivasyonu aynı zamanda hümmoral bağışıklık cevabının ve iltihabın oluşmasında, antijen-antikor komplekslerinin dolaşımından uzaklaştırılmasında ve kemik rezorpsiyon mekanizmasında da rol alır. Erken lezyonda, birleşim epitelinden bağ dokusuna doğru gelişen rete pegler, fibroblastlarda apoptozis, bağ doku proteinlerinde yıkım görülmektedir. Ayrıca bu aşamada artan enflamasyonla birlikte gingivitisin klinik bulguları da gözlenmeye başlanır; DOS artışı, diş etinde ödem, kızarıklık ve sondalamada kanama bulguları mevcuttur.<sup>91</sup>

Plak akümülyasyonundan 2-3 hafta sonra gelişen yerleşik lezyonda, bağ dokusuna yoğun enflamatuvar hücre geçişi ve enflamasyonda sorumlu hücre tipinde değişiklik olmaktadır. Yerleşik lezyon aşamasında enfeksiyon artık kronikleşmiştir ve

doğal immün cevaptan kazanılmış immün cevaba geçiş olmaktadır. Enflamasyon alanında yoğun olarak B lenfositler ve plazma hücreleri bulunmakta; B lenfositlerden IgG üretimi gözlenmektedir. Yerleşik lezyon aşamasında kan akımı bozulmuş, kollejeolitik aktivite artmıştır. Bu durum fibroblastların kollajen üretimini de arttırmaktadır. Birleşim epitelinde rete pegler belirginleşmiş ve bağ dokusuna doğru göç etmeye başlamıştır. Cep epiteli ülseredir bu yüzden klinik olarak sondalamada diş eti kanaması daha sık görülür, diş etinde renk ve kontur değişiklikleri ile karakterize orta ve şiddetli gingivitis tablosu gelişmiştir. Yerleşik lezyon bazı bireylerde ilerleme göstermeden stabil bir şekilde aylarca hatta yıllarca kalabilmekte bazı bireylerde ise aktifleşerek ilerlemiş doku yıkımına dönüşebilmektedir.<sup>91</sup>

İleri lezyon, gingivitisten periodontitise geçiş aşamasıdır. Her periodontitis olgusu gingivitis sonrası gelişmekte ancak her gingivitis olgusu periodontitise dönüşmemektedir. Gingivitisten periodontitise geçişte birçok faktör etkili olmaktadır. MDP içeriği ve miktarının değişimi, konak enflamatuvar cevabı ve çevresel ve genetik duyarlılaştırıcı faktörler enflamasyonun derin dokulara ilerlemesinden, geri dönüşümsüz ataşman kaybı ve kemik yıkımının histolojik ve klinik olarak görülmesinden sorumlu tutulmaktadır.<sup>91</sup> İleri lezyonda diş eti oluğu derinleşerek periodontal cep oluşmaktadır. Oluk içinde nötrofiller yoğun olarak bulunurken bağ dokusunda ise plazma hücreleri baskın durumdadır.<sup>25</sup> Nötrofiller konağı savunurken eş zamanlı olarak fibroblast, endotel hücreleri ve keratinosit gibi çok önemli hücrelere zarar vermektedir. Nötrofiller, doku yıkım proteazlarını da içeren lizozomal enzimleri sentezler ve ortama salarlar. Doku yıkıcı enzimlerin, kemiği rezorbe eden lipidlerin ve diğer iltihabi mediyatörlerin varlığı, iltihabi cevabın oluşumuna ve ataşman kaybına neden olmaktadır.

Periodontal hastalıklardaki doku yıkım mekanizması: mikroorganizmaların antijenleri ve virülans faktörlerinin konağın mikrobiyal ürünlere karşı sitokinler, prostanoidler ve MMP gibi anahtar role sahip enflamatuvar mediyatör ve yıkıcı enzimlerin salınımı ile cevap vermesi ve konakta hızlı ve aşırı bir iltihabi ve immün cevabın başlatılması şeklinde özetlenebilir.<sup>25</sup>

### 2.6.3. Sitokinler

Sitokinler enflamatuvar olaylar esnasında çeşitli hücrelerce üretilip diğer konak immün hücreleri etkileyecek sinyaller içeren ve konağın enflamasyon, immün cevap, hematopoez ve tamir cevaplarını düzenleyen anahtar mediatörlerdir. Sitokinler genellikle geçici olarak üretilen, pikomolar konsantrasyonlarda oldukça güçlü fonksiyon gören düşük molekül ağırlıklı glikoproteinler olup enflamasyonun başlangıç ve ilerleyen safhalarında immün cevabın şiddetinin ve süresinin düzenlenmesinde rol oynarlar. Periodontal enflamasyonda sitokinler epitelyal hücreler ve fibroblastlardan, enflamasyonun akut ve erken kronik safhalarında nötrofil ve makrofaj gibi fagositik hücrelerden, yerleşik ve ileri lezyonlarda lenfositlerden üretilmektedir.<sup>92</sup> Hücrelerin yaşamasını, çoğalmasını, farklılaşmasını ve fonksiyonlarını kontrol eden sitokinler etkilerini hedef hücrelerdeki spesifik membran reseptörlerine bağlanarak gerçekleştirir ve hücre içi iletişim olaylarını başlatırlar. Hedef hücrelerde gen ekspresyon değişimine neden olan sitokinler, hedef hücrelerin yeni fonksiyonlar geliştirebilmesini ve çoğalmasını sağlar.<sup>93</sup>

Proenflamatuvar sitokinlerin genetik düzenlenmesi çeşitli sinyal yollarının aktivasyonu ile olmakta bu yollardan özellikle Nf-κB transkripsiyonunun aktivasyonu LPS'ler gibi patojene ilişkin moleküllerin doğrudan *toll* benzeri reseptörlerle etkileşmesi sonucu aktiflenmektedir.<sup>93</sup>

Sitokinlerin etkileri sistemik veya lokaldir. Belirli bir grup hücre tarafından üretilip, kana veya çeşitli hücresel sıvılara salgılanıp, vücudun diğer bölgelerindeki hücrelere reseptörlerine bağlanan sistemik etkili sitokinler gibi lokal etkisini salgılandığı hücrede gösteren otokrin veya komşu hücrede gösteren parakrin etkili sitokinler de bulunmaktadır. Sitokinler genellikle diğer sitokinlerin sentez ve etkilerini değiştirebilirler. Bir hücreden salgılanan sitokin pleiotropik etkili olabilir. Pleiotropik etki; farklı hücre tiplerinde bir diğerinin tam zıttı etki oluşturabilmesidir. Sitokinler, immün cevapta yer alan tüm hücre fonksiyonlarını etkilemekte ve hastalıkların patogenezinde önemli rol oynamaktadırlar.<sup>94</sup>

Sağlıkta proenflamatuvar sitokinlerin aktivitesi immün cevabı düzenleyen anti-enflamatuvar sitokinler ve diğer birçok mediyatörlerle dengede tutulmaktadır.

Periodontal hastalıkta bu dengenin bozulduğu kan, tükürük, DOS ve doku biyopsilerinde yapılan ölçümlerle gösterilmiştir.<sup>95</sup>

Sitokinlerin bazıları [İnterlökin-1alfa (IL-1 $\alpha$ ), IL-1 $\beta$ , IL-6 ve tümör nekroz faktörü (TNF)] proenflamatuvar fonksiyonlara, bazıları da [İnterlökin-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra), IL-4, IL-10, IL-13, IL-16 ve transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- $\beta$ )] antienflamatuvar fonksiyonlara sahiptir.<sup>25</sup> Farklı sitokinler ve fonksiyonları Tablo 1.2’de sınıflandırılmıştır: <sup>25</sup>

**Tablo 1.2:** Proenflamatuvar ve antienflamatuvar sitokinler

<b>MDP’ye karşı erken cevaptan sorumlu proenflamatuvar sitokinler:</b>
IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 (pleiotropik)
<b>Diğer proenflamatuvar sitokinler:</b>
İnterferon gama, onkostatin M, IL-8, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, TGF- $\beta$ , granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör, RANKL
<b>Antienflamatuvar sitokinler:</b>
IL-4, IL-10, IL-13, IL-16, interferon alfa, IL-1Ra, TNF- $\alpha$ veya IL-6’nın çözünebilir reseptörleri, TGF- $\beta$ , granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör, Osteoprotegerin

MDP: Mikrobiyal dental plak, IL: İnterlökin, TNF-  $\alpha$ : Tümör nekroz faktör alfa, RANKL: Nükleer faktör kappa-B ligandın reseptör aktivatörü, TGF-  $\beta$ : Transforme edici büyüme faktörü beta

### *IL-1 ailesi ve IL-1 $\beta$*

IL-1 ailesi sitokinleri 2. kromozomda yer alan esas olarak proenflamatuvar etkili sitokinlerdir. 1980’lere kadar sadece lenfositleri aktive eden, endojen pirojen ve katabolik etkili sitokinler olarak bilinen IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  klonlanabilmiştir <sup>96</sup>. Oysa ki günümüzde IL-1 sitokin ailesinde yapısal olarak birbirine benzeyen 11 üye tespit edilmiştir. Yapıları, reseptör bağlayıcılıkları ve gendeki yerleri dikkate alınarak IL-1 ailesi sitokinleri (IL-1F) isminde yeniden isimlendirilmişlerdir (Bkz. Tablo 1.3).<sup>25</sup>

**Tablo 1.3:** IL-1 sitokin ailesi

Sitokin	Sistemantik isimlendirme	Sitokin	Sistemantik isimlendirme
<b>IL-1<math>\alpha</math></b>	IL-1F1	<b>IL-1F7</b>	IL-1F7
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	IL-1F2	<b>IL-1F8</b>	IL-1F8
<b>IL-1Ra</b>	IL-1F3	<b>IL-1F9</b>	IL-1F9
<b>IL-18</b>	IL-1F4	<b>IL-1F10</b>	IL-1F10
<b>IL-1F5</b>	IL-1F5	<b>IL-33</b>	IL-1F11
<b>IL-1F6</b>	IL-1F6		

IL: İnterlökin, IL-1 $\beta$ : İnterlökin-1beta, IL-1 $\alpha$ : İnterlökin-1alfa, IL-1F: İnterlökin ailesi

Enflamasyon ve otoimmün hastalıklarla ilişkili çok sayıda gen tarafından IL-1 sitokin ekspresyonu sağlanmaktadır. Bu genler ayrıca siklooksijenaz-2, Tip 2 fosfolipaz A ve indüklenbilir nitrik oksit sentazı kodlayan genlerdir.<sup>97</sup> IL-1 sitokinleri çok geniş bir yelpazede birçok hücre tipi tarafından salınır, enfeksiyona karşı doğal ve kazanılmış immün cevapta önemli rol oynar. IL-1 sitokinleri genel olarak proenflamatuvar sitokinlerdir fakat IL-1Ra ve IL-1F7 antienflamatuvar etki gösteren sitokinlerdir.<sup>25</sup>

IL-1 $\beta$  periodontal hastalık patogenezinde hem enflamasyon hem de immün cevabın, özellikle de doğal immün cevabın uyarılmasında önemli role sahip proenflamatuvar bir sitokindir. Periodontal enflamasyonda IL-1 $\beta$  esas olarak makrofaj ve dendritik hücrelerden salınmasına rağmen gingival fibroblast, periodontal ligament hücreleri ve osteoblastlar tarafından da üretilirler. IL-1 $\beta$  nötrofillerin, B ve T hücrelerin aktivasyonunu, karaciğerden akut faz proteinlerin salınımını ve ateş oluşumunu sağlar.<sup>98</sup>

IL-1 $\beta$  enflamatuvar değişiklik ve doku hasarına yol açan diğer konak mediyatörleriyle yakın ilişki göstermektedir. IL-1 $\beta$ , prostaglandin-E2 (PGE<sub>2</sub>), trombosit aktive edici faktör ve enfekte veya hasarlı dokuya kan akımını arttırıcı etkide damar değişikliğine yol açan nitrik oksit sentezini arttırmaktadır. IL-8 gibi kemokinlerin salınımını uyararak nötrofillerin periferik kan damarlarından geçerek enfekte dokuya ulaşmasını; kemotaksisini sağlar ayrıca kompleman proteinlerin sentezini uyarır.<sup>25</sup>

IL-1 $\beta$  çok güçlü bir kemik yıkım uyarandır.<sup>99</sup> IL-1 $\beta$  monosit, gingival fibroblast, periodontal ligament ve osteoblastlardan büyük miktarlarda PGE<sub>2</sub> üretimini uyarak kemik rezorpsiyonuna ve aynı zamanda gingival fibroblast ve periodontal ligament hücrelerinden MMP salınımını başlatarak, bağ dokusu yıkımına neden olur. PGE<sub>2</sub> osteoblastlardan RANKL üretimini arttırmakta ve kemik yıkımında IL-1 $\beta$  ile birlikte sinerjik etkinlik göstermektedir.<sup>25</sup> Kemik yıkımında bir diğer mekanizma ise prostaglandinden bağımsız olarak, IL-1'in osteoklastlar üzerine direkt etki ile kemik rezorpsiyonuna neden olmasıdır.<sup>100, 101</sup> Osteoklastların IL-1 reseptör 1'e sahip olduğu ve bunun osteoklast farklılaşması ve aktivasyonunda önemli rolü bulunduğu düşünülmektedir.<sup>102</sup>

IL-1 $\beta$  kazanılmış immün cevapta da önemli role sahiptir. Antijen sunan hücrelerin gelişimini düzenlemekte, makrofajlardan aktif B hücrelerin dönüşümünü sağlayan IL-6 salınımını uyarmaktadır.<sup>25</sup>

Deneyisel hayvan çalışmalarında IL-1 $\beta$ 'nin enflamasyon ve alveoler kemik kaybını şiddetlendirdiği<sup>103</sup> ayrıca IL-1 $\beta$  antagonistinin hem sistemik hem de diş etine lokal uygulanmasının alveoler kemik kaybını önlediği gösterilmiştir.<sup>100</sup>

İnsanda gönüllüler üzerinde yapılmış deneysel gingivitis modelinde DOS IL-1 $\beta$  seviyesinin özellikle gingivitisin erken safhasında (ağız hijyen uygulamaları bırakıldıktan 1 hafta sonra) yaklaşık 8 kat arttığı ve deney süresince (4 hafta) yüksek kaldığı gözlenmiştir. Aynı deneyde PGE<sub>2</sub> seviyelerinin gingivitisin özellikle geç safhalarında artış gösterdiği 4. haftada 2.5 kat artmış DOS PGE<sub>2</sub> değerlerinin özellikle kanama skorlarıyla pozitif ilişki gösterdiği bildirilmiştir.<sup>104</sup>

DOS IL-1 $\beta$  konsantrasyonu gingivitis ve periodontitisten etkilenmiş alanlarda artış göstermektedir. Ayrıca diş eti dokusunda IL-1 $\beta$  seviyeleri klinik periodontal hastalık şiddetiyle doğru orantılı olarak artmaktadır.<sup>25</sup>

Periodontitiste artmış kemik ve bağ doku yıkımı DOS'ta<sup>105-110</sup> ve tükürükte<sup>111, 112</sup> IL-1 $\beta$  seviyelerinde artışa neden olmakta başarılı bir CPT sonrası azalan enflamasyonla birlikte IL-1 $\beta$  seviyelerinde düşüş gözlenmektedir.<sup>109, 113-115</sup>



## *IL-10*

IL-10, düzenleyici T hücreleri, B hücreleri ve monositlerce üretilip Th1, Th2, monosit ve makrofajların sitokin salınımını durduran immün baskılayıcı özellikte, antienflamatuvar bir sitokindir.<sup>25</sup> IL-10, B lenfositlerin en güçlü aktive edici sitokinidir. Makrofajların antijen sunmasını ve IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin üretimini engelleyerek immün cevabı baskılamaktadır. Bunun dışında anjiyogenezi, skar oluşumunu ve reepitelizasyonu önleyerek antifibrotik etkinlik göstermekte ve yara iyileşmesinin düzenlenmesinde görev almaktadır.<sup>116</sup>

IL-10 enflamasyon bulunan periodontal dokulardan yüksek miktarda salınarak hastalığın yayılımı ve şiddetini sınırlandırmaya çalışır, periodontal dokularda immün cevabı düzenler. IL-10 MMP doku inhibitörlerini (TIMP) uyararak, MMP üretimini durdurmakta, bağ doku yıkımını önleyici etkide bulunmaktadır.<sup>92</sup> IL-10 osteoklast oluşumunu, osteoklast prekürsörlerini hedef alıp direkt olarak veya dental folikül hücrelerinden osteoprotegerin üretimini artırıp ve RANKL üretimini azaltarak indirekt yolla engelleyebilmektedir.<sup>100</sup>

Periodontal dokulardan IL-10 salınımıyla ilgili çalışmaların sonuçları farklılıklar göstermektedir. Honda ve ark.<sup>117</sup> gingivitisli ve periodontitisli bireylerin diş eti dokusu örneklerinde IL-10 mRNA ekspresyonu açısından fark bulamazken Dutzan ve ark.<sup>118</sup> periodontitisli hastalardan elde ettikleri doku örneklerinde IL-10 gen ekspresyonunu aktif periodontal lezyonlara kıyasla inaktif periodontal lezyonlarda daha yüksek bulmuşlardır.

Çetinkaya ve ark.<sup>119</sup> gingivitisli ve kronik periodontitisli bireylerin DOS IL-10 seviyelerinde fark olmadığını göstermişlerdir. Bundan farklı olarak periodontal hastalıklı bireylerin DOS'unda sağlıklı bireylere kıyasla daha düşük IL-10 seviyelerinin saptandığını gösteren çalışmalar<sup>120, 121</sup> da mevcut olup periodontal hastalıkta gözlenen düşük IL-10 seviyelerinin gingivitisten periodontitise geçişi hızlandıran ve hastalığın ilerlemesine yol açan bir faktör olabileceği de belirtilmiştir.<sup>121</sup>

IL-10'un periodontal hastalık patogenezindeki rolü henüz tam olarak bilinmemekle birlikte periodontal sağlığın devamlılığının sağlanmasında önemli bir sitokin olduğu düşünülmektedir.<sup>25</sup>

#### 2.6.4. Büyüme faktörleri

Hasarlanan dokularda iyileşme üç aşamada gerçekleşmektedir: enflamasyon fazı, granülasyon fazı ve dokunun yeniden şekillendirildiği remodelling fazı. Tüm bu aşamalarda hücrelerin davranışları ve hücre-matriks etkileşimleri sitokin ve büyüme faktörleri gibi çözünebilir mediyatörleri içeren çeşitli faktörlerle kontrol edilmektedir.<sup>122</sup>

Büyüme faktörleri hücrel yapışma, çoğalma, kemotaksi ve farklılaşma gibi hücrenin yaşamsal faaliyetlerini düzenleyen geniş bir polipeptid molekül ailesidir. Her bir büyüme faktörü spesifik fonksiyona ve hedef hücreye sahip olup birbirleriyle denge içinde çalışmaktadır. Genel anlamda büyüme faktörleri hücredeki reseptörlerine bağlandıktan sonra hücrel cevabı başlatan küçük moleküllerdir. Bu reseptörlerin çoğu G protein bağlı reseptörler olup yaklaşık 800 üyesi bulunan geniş bir ailedir.<sup>123</sup>

Periodontal dokularda gerçekleşen fizyolojik ve patolojik birçok olayda büyüme faktörleri önemli görevler üstlenmektedir. Büyüme faktörleri enflamasyonun başlatılmasında rol alabildiği gibi enflamasyonun çözülmesi ve kaybedilen dokuların tamiri veya rejenerasyonunda da rolü bulunmaktadır. Kemik, periodontal ligament ve sement yüksek oranda farklılaşmış dokulardır ve farklı büyüme faktörü sinyallerinin bu dokuların iyileşmesinde rol oynadığı bilinmektedir.<sup>123</sup> Periodonsiyumdaki tüm hücreler aynı hızda iyileşme göstermemektedir. Örneğin epitel hücrelerin bölünme hızı fazladır, bu yüzden epitel kendini hızla tamir edebilmektedir. Epitel dokusunun hızlı tamir yeteneği tükürükteki büyüme faktörleriyle de ilişkilendirilmiştir.<sup>124</sup> Bu nedenle büyüme faktörlerinin üretilmesi ve aktifleşmesi periodontal dokuların sağlığının sürdürülmesi ve tamir sürecinde oldukça önemlidir.

### *Vasküler endotelyal büyüme faktörü*

Çevredeki kapiller yataktan endotelyal hücrelerin çoğalarak yeni kapiller oluşturması anjiyogenezis olarak tanımlanmaktadır. Anjiyogenezis çok sayıda sitokin ve büyüme faktörü tarafından kontrol edilmektedir. VEGF anjiyogenezis ve damar geçirgenliğinde anahtar role sahip bir büyüme faktörüdür.<sup>125</sup> VEGF, mikrovasküler geçirgenliği arttırmakta, endotel hücre çoğalmasını, proteolitik enzim sekresyonunu, endotel hücreleri ve monositler gibi anjiogeneziste rol oynayan tüm hücrelerin ilgili alana hareketlenmesini sağlamaktadır. VEGF, histaminden 50,000 kez daha fazla damarsal geçirgenlik artışına neden olarak sıvı ve proteinlerin endotel membranından geçişine izin vermektedir.<sup>125, 126</sup>

VEGF ailesinin birçok üyesi bulunmaktadır. VEGF'nin bazı izoformları salındıktan hemen sonra heparine bağlanıp hücre yüzeyinde veya ESM'de bağlı bulunurken bazıları ise heparine bağlanmaz ve çözünür serbest formu bulunmaz.<sup>125</sup> VEGF fizyolojik (menstrual siklus, hamilelik ve yara iyileşmesi) ve patolojik (diyabet, romatoid artrit, psöriazis, kanser ve kronik enflamasyon) birçok durumda rol almaktadır.<sup>127, 128</sup> VEGF'nin siklosporine bağlı diş eti büyümelerinin patogenezinde önemli role sahip olduğu<sup>129</sup> ayrıca majör tükürük bezlerinden de VEGF üretildiği ve mukozal dengenin sağlanmasında rolü olduğu gösterilmiştir.<sup>130</sup>

Periodontitis aktif ve pasif dönemleri bulunan epizodik karakterde bir hastalıktır. Periodontal hastalık gelişiminde periodontal damarlanma büyük ölçüde değişime uğramaktadır. Hastalığın erken fazlarında damar çevresindeki bağ dokuda bozulma ve kollajen fibrillerin yıkımı gerçekleşmekte ve dokular arası enflamatuvar hücrelerin dolduracağı boşluklar oluşmaktadır. Kaybedilen bağ doku boşluklarına kapillerler proliferere olmakta ve enflame dokularda proenflamatuvar mediyatörlerin salınımı ile anjiyogenezis tetiklenmektedir. Aynı zamanda anjiyogenezis enflamasyonun şiddetini belirlemekte, artan yeni kan damarları proenflamatuvar mediyatörlerin lezyon alanına taşınmasını sağladığı gibi enflame dokulara besin ve oksijen sağlanmasını da gerçekleştirmektedir. Yeni kan damarları endotelyal yüzey alanının artmasına bu da çeşitli sitokinlerin, adezyon moleküllerinin ve enflamasyonu geliştiren faktörlerin üretilmesine neden olacak potansiyel substrat artışına yol açmaktadır.<sup>131</sup>

Johnson ve ark.<sup>131</sup> yaptıkları bir çalışmada sağlıklı, gingivitisli, orta ve derin ceplere sahip periodontal hastalıklı bireylerden elde edilen diş eti doku örneklerinde ELISA yöntemi kullanılarak VEGF seviyelerini araştırmışlar, sağlıklı diş eti dokusuna göre hastalıklı diş eti dokusunda VEGF seviyelerinin arttığını ancak VEGF seviyeleri ile hastalık şiddeti arasında ilişki bulunmadığını göstermişlerdir. VEGF'nin vasküler ağın genişlemesine neden olarak enflamasyonu arttırdığını ve gingivitisten periodontitise dönüşümünü hızlandıran bir faktör olabileceğini belirtmişlerdir. Keleş ve ark.<sup>132</sup> ise periodontal olarak sağlıklı, gingivitis ve periodontitisli hastaların diş eti doku örneklerinde PZR kullanarak VEGF mRNA ekspresyonunu araştırmış; tüm gruplarda VEGF mRNA ekspresyonunun saptandığını ancak gruplar arasında istatistiksel fark bulunmadığını bildirmişler ve VEGF'nin periodontal sağlığın idamesi ve periodontal doku yıkımı patogenezinde rolü olabileceğini belirtmişlerdir.

VEGF anjiyogenezis oluşumunda çok önemli bir faktördür. Ancak periodontal hastalığın gelişimi, ilerlemesi ve periodontal dokuların iyileşmesinde anjiyogenezisin rolü tam aydınlatılabilmemiş değildir.<sup>133</sup> VEGF periodontal hastalık patogenezinde hem patolojik hem de rejeneratif süreçlerde rol almakta bununla birlikte diş eti dokularında veya DOS'da yüksek seviyeleri çoğunlukla hastalık bulgularını işaret etmektedir.<sup>131</sup>

#### 2.6.5. *Matriks metalloproteinazlar*

MMP'ler önceleri "dokular arası kollajenazlar ve jelatinazlar" olarak adlandırılmaktayken günümüzde ESM'yi ve bazal membran yapılarını parçalayan MMP proteaz süper ailesinde yapısal olarak benzeşen fakat genetik olarak birbirinden farklı çok sayıda enzim tanımlanmıştır. MMP'lerin sınıflandırılması Tablo 1.4'te gösterilmektedir.<sup>25</sup>

MMP'ler ESM'nin tüm yapılarının ve bazal membranın parçalanmasına yol açan endojen proteinazlardır. MMP'lerin hepsi periodontal dokuların yıkımına yol açan patolojik aşırı aktivite göstermektedirler.<sup>25</sup>

MMP'lerin aktivitesinin, sentez ve salınımları arasındaki dengenin kontrolü ana endojen baskılayıcıları olan TIMP'lerle sağlanmaktadır.<sup>25</sup> TIMP enzim ailesinin 4 üyesi bulunmaktadır: TIMP-1,-2,-3 ve -4. TIMP'ler ana fonksiyonu olan MMP

inhibisyonu yapmanın yanı sıra MMP'lerin taşınmasında, ESM içindeki yerinin ve stabilizasyonunun düzenlenmesinde görev almaktadırlar. TIMP-1,-2 ve -4 ESM'de serbest olarak bulunurken TIMP-3 ESM'de bağlı durumda bulunmaktadır.<sup>92</sup>

MMP'lerin ekspresyonu ve salınımı sadece nötrofillerden değil normal ve hastalıklı periodonsiyumda birçok hücre tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu hücreler: gingival epitelyal hücreler, fibroblastlar, endotelyal hücreler, monosit/makrofaj ve plazma hücreleridir.<sup>92, 134</sup>

**Tablo 1.4:** MMP'lerin sınıflaması

GRUP	İSİM (ENZİM)
Kollajenazlar	Kollejenaz-1 (MMP-1), Kollejenaz-2 (MMP-8), Kollejenaz-3 (MMP-13)
Jelatinazlar	Jelatinaz A (MMP-2), Jelatinaz B (MMP-9)
Stromelizinler	Stromelizin-1 (MMP-3), Stromelizin-2 (MMP-10), Stromelizin-3 (MMP-11)
Matrilizinler	Matrilizin-1 (MMP-7), Matrilizin-2 (MMP-26)
Membran tipte MMP'ler (MT-MMP)	MT1-MMP (MMP-14), MT2-MMP (MMP-15), MT3-MMP (MMP- 16), MT4-MMP (MMP-17), MT5-MMP (MMP-24), MT6-MMP (MMP-25)
Diğerleri	Makrofaj elastaz (MMP-12), MMP-19 ve Enamelizin (MMP-20)

MMP: matriks metalloproteinaz

Sağlıklı periodontal dokularda MMP gen transkripsiyonu çok düşük seviyelerdedir. Periodontitisten etkilenmiş gingival dokularda MMP salınımı artış göstermektedir. MMP'ler DOS ve tükürük örneklerinde tespit edilebilmekte ve periodontal tedavi sonrası azalarak sağlıklı bölgelerdeki seviyelere ulaşılabilir.<sup>135</sup> Periodontal hastalıkta belli MMP'lerin salınımı çeşitli sitokinler tarafından uyarılır veya engellenir. MMP'ler üzerinde uyarıcı etkisi bulunan ana sitokinler TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6'dır. Bu sitokinlerle aktive olan MMP'ler diğer MMP'lerin aktivasyonunu da sağlamaktadır.<sup>92, 134</sup>

## *MMP-8*

MMP-8, diğ er adıyla Kollajenaz-2, diş eti bağ dokusunun ana kollajenazıdır. MMP-8 esas olarak nötrofillerden üretilmektedir ve özellikle dokular arası kollajenin yıkımından sorumludur.<sup>135</sup> DOS'taki kollajenolitik aktivitenin %90-95'i MMP-8'den kaynaklanmaktadır. MMP-8'in periodontal enflamasyonda insan diş eti dokularında, DOS ve oral sıvılarda varlığı gösterilmiştir.<sup>134</sup>

Bakteriyel biyofilme cevapta nötrofillerin bölgeye ulaşmasında gerekli olan IL-8'in salınımı ile birlikte nötrofillerden MMP-8 de salınmaktadır. Böylece aynı zamanda hem ESM'in üzülmesi gerçekleşmekte hem de diğ er efektör hücrelerden MMP retim sinyali oluşturulmaktadır.<sup>135</sup> Ancak periodontitisten etkilenen alanlarda nötrofiller dişında farklı hücreler tarafından da sentezlendiği bildirilmiştir.<sup>136</sup>

Kronik periodontitisli bölgelerden veya enflame diş eti bölgelerinden elde edilen diş eti veya DOS rneklerinde MMP-8'in arttığı birçok çalışmada ortaya konulmuştur.<sup>136-140</sup> Ayrıca kronik periodontitis hastalarında DOS MMP-8 seviyelerinin CPT sonrasında azaldığı da gösterilmiştir.<sup>138, 141</sup> DOS'taki MMP-8 seviyeleri ile periodontal hastalığın ilerlemesi arasında sıkı bir ilişki bulunmaktadır.<sup>142</sup> MMP-8 periodontal hastalık patogenezinde önemli role sahip, hastalığın teşhisi ve takibinde kullanılabilen bir biyobelirteçtir.<sup>142</sup>

Periodontal hastalıkta bireyin konak yanıtı oral dokularda ve biyolojik sıvılarda yapılan incelemeler sonucu açığa çıkarılmaya çalışılmaktadır. Periodontal hastalık patogenezinin anlamamızda önemli rolü bulunan bu parametreler ancak çok hassas ölüm yöntemleri kullanılarak ortaya çıkarılabilmektedir. Bu konuda oral dokuların histolojik kesitlerinin incelenmesi, immünolojik analizler ve çeşitli protein, nükleik asit analizleri gerçekleştirilebildiği gibi kan, tükürük ve DOS'da yapılan analizler de sıklıkla kullanılmaktadır. DOS periodontal hastalıkta konak savunma cevabını anlamamızda ve periodontal hastalığın alana özgü bilgisinin elde edilmesinde periodontal çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır.<sup>143</sup>

## 2.7. Konak Savunma Cevabının Tespiti ve Ölçümünde DOS

Periodontal bağ dokusu yüksek oranda damarlanma göstermekte ve DOS esas olarak mikrovasküler sızıntıdan kaynaklanmaktadır. Bazal membrandan ve birleşim epitelindeki nispeten geniş hücreler arası mesafeden geçen kanın moleküler ve hücrenel bileşenleri sulkusa ulaşmakta ve böylece diş eti oluşu, DOS ile yıkanmaktadır. DOS çok düşük hacimlerde, mikrolitre ( $\mu\text{l}$ ) seviyelerinde ölçülmektedir. Sağlıklı bir diş eti oluşunda DOS miktarı oldukça azdır. Genel olarak diş eti ve periodontal dokularda artan enflamasyon ile DOS akışı artış göstermektedir. Bu akış sağlıklı bireylerde sıg cepler için 3-8  $\mu\text{l/saat}$ , orta düzeyde etkilenmiş periodontal hastalıklı ceplerde ortalama olarak 20  $\mu\text{l/saat}$  ve ileri düzeyde etkilenmiş periodontal hastalıklı ceplerde 137  $\mu\text{l/saat}$  olarak tespit edilmiştir.<sup>144</sup> DOS akış hızı ve miktarı dokudaki enflamasyon derecesinden ve cep epitelinde bulunan ülsere alanların yaygınlığından etkilenmektedir. Ayrıca DOS akışı sigara, hormonlar, mekanik stimülasyon, diş etindeki enfeksiyon ve periodontal tedavi gibi faktörlerden de etkilenmektedir. DOS miktarı sabah 6 ile akşam 10 arasında artış gösterip daha sonra düşme eğilimindedir.<sup>143</sup>

Sağlıklı diş etinde transuda özelliği gösteren DOS, klinik olarak diş etinde enflamasyon tespit edildiğinde enflamatuvar eksuda özelliği göstermektedir.<sup>143</sup> DOS miktarının belirlenmesi ve içeriğinin analizi periodontal hastalıkla ilişkili biyobelirteçlerin tespitinde ve bunların konak-mikroorganizma etkileşimindeki rolünü belirlemede büyük öneme sahiptir. Periodontal cep içerisinde antimikrobiyal ürünler ve enzimlerin bakteriyel kolonizasyon bölgesine taşınması yanı sıra DOS'un dışa yönelen akışı sayesinde, fiziksel etki ile diş eti oluşu içindeki planktonik bakterilerin dışarı atılması ve metabolik yan ürünlerinin ve toksinlerinin diş eti oluşunda seyreltilmesi sağlanır. DOS serumda bulunan ve lokal üretilen immün sistemin birçok anahtar molekülerini (kompleman bileşenleri ve antikorlar) ve hücrenel (nötrofil ve plazma hücreleri) bileşenlerini taşır. DOS içerisindeki antikor düzeyleri sistemik ve yerel yanıtın bir birleşimidir. DOS'ta Ig'lere rastlanılmakta ve ağızdaki antikorların kaynağını tükürük ve DOS oluşturmaktadır.<sup>145</sup>

DOS'un toplanması invaziv olmayan, görece basit bir işlemdir. DOS araştırmacılara periodontal dokuların enflamatuvar durumunun alana özgü bilgisini

verdiği için DOS örneklerinin toplanması araştırmacılar için oldukça önemlidir. DOS'un toplanmasında, yapılan çalışmanın hedefine bağlı olarak çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bu teknikler; dış eti oluğu yıkama metodu, kapiller tüpler veya mikro pipetler ile toplama, emici kâğıt şeritler ve dışın etrafına oluk içine yerleştirilen ipliklerle toplama yöntemleridir.<sup>143, 146</sup>

DOS içeriğinin tespiti çok küçük örnek hacimlerinde çok az miktarda bulunan mediyatörlerin tespitine izin verecek hassasiyete sahip çeşitli yöntemlerle yapılabilmektedir. Fluorometri, radyoimmünoassay, direkt ve indirekt immünodot testleri, yüksek basınçlı likit kromatografisi bu amaçla kullanılabilirdiği gibi DOS içeriğinin tespitinde en sık ELISA yöntemi kullanılmaktadır.<sup>147</sup>

## **2.8. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri**

Ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanırlar. Serbest radikaller pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon) veya elektriksel olarak yüksüz (nötr) olabilirler. Diatomik oksijen iki tane eşleşmemiş elektronu bulunduğu için kendisi bir radikaldir ve oksijenin suya dönüşümü esnasında birçok reaktif oksijen tür (ROT)'leri oluşmaktadır. Oksijen radikalleri mitokondriyal elektron transport zincirinde gerçekleşen elektron kaçaklarının süperoksit oluşturmasıyla, konak defans hücreleri (fagositik hücreler) ve bağ doku hücrelerinin (osteoklast ve fibroblast) fonksiyonel ROT üretimiyle, kendiliğinden okside olan moleküllerin otooksidasyonu sonucu ve dokuda uzun süren iskemi durumunda reperfüzyonun sağlanması sırasında endojen olarak üretilmektedir. Oksijen radikallerinin ekzojen kaynakları ise ısı, travma, ultrason, ultraviyole (UV) ışıkları, ozon, sigara, egzoz dumanı, radyasyon, enfeksiyon, aşırı egzersiz ve teropatik ilaçlardır. Bundan başka ROT'lar radikal olanlar ve radikal olmayanlar olarak iki ana başlık altında incelenebilmektedir (Bkz. Tablo 1.5).<sup>148</sup>

Metabolik ve fizyolojik süreçler sırasında meydana gelen serbest radikaller ve ROT'lar enzimatik olan veya olmayan antioksidan mekanizmalar ile uzaklaştırılmaktadır. Hücre içi redoks durumunu etkileyecek çok küçük değişimler gen transkripsiyon olaylarını başlatabilmekte ve proenflamatuvar durumu tetikleyerek



doku yıkımına neden olabilmektedir. Hücre içi oksidan-antioksidan dengede gerçekleşen daha büyük değişimler canlının önemli biyomoleküler yapılarına direkt zarar vermekte, hücre membranının parçalanması ve fonksiyonunun bozulmasına, ESM bağ dokusu ve diğer yapıların zarara uğramasına ve hatta hücre ölümüne (nekroz veya hızlı apoptozis) neden olmaktadır. Antioksidan defans sistemi gen transkripsiyonu ve hücre sinyal yollarını etkileyerek hücre içi redoks dengesinin sağlanmasında rol almaktadır. Ayrıca antioksidanlar reaktif türlerin oluşumunu da önlemekte, onların atılımını sağlamakta ve biyolojik doku hasarını tamir etmektedir.<sup>149, 150</sup>

Bütün organizmalarda serbest radikal üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasında hassas bir denge vardır. Oksidatif stres, ROT'ların üretimi ile bunların antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılması arasındaki dengesizlikten kaynaklanmakta; oksidan/antioksidan dengede ağırlığın oksidatif tarafa kayması ile meydana gelmektedir. Oksidatif stresin sigara içimiyle ilişkili hastalıklar, nörodejeneratif süreçler, sistemik amiloidoz, romatoid artrit, kardiyovasküler hastalıklar, obezite, ateroskleroz, diyabet, yaşlanma ve periodontal hastalık süreçlerinde rol oynadığı düşünülmektedir.<sup>149</sup>

Proteolitik enzimlerle (nötrofil elastaz vb.) bunların inhibitörleri ( $\alpha$ -antitripsin vb.) arasındaki homeostatik dengenin bozulması kadar ROT ve önemli doku, hücre ve moleküler komponentleri koruyan, tamir eden antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması da periodontal doku hasarından sorumlu tutulmaktadır.<sup>151</sup>

Konak-mikroorganizma etkileşimi sonucu gerçekleşen periodontal doku hasarından oksidatif stres de sorumlu tutulmaktadır. Hem kronik hem agresif periodontitiste periferik kanda nötrofil hiperaktivitesi ROT'ların artışına neden olmaktadır. Periodontal hastalıkta aşırı ROT aktivitesi ve azalmış antioksidan kapasitenin direkt sonucu olarak veya redoksa duyarlı transkripsiyon faktörlerinin etkisi ve proenflamatuvar durumun yaratılması ile indirekt olarak oluşan, oksidatif stres kaynaklı periodontal doku hasarı gerçekleştiği düşünülmektedir.<sup>149</sup> Periodontal hastalıkta rol oynadığı düşünülen en önemli ROT'lar ise süperoksit ( $O_2^-$ ) ve hidroksil ( $\cdot OH$ ) radikalidir.

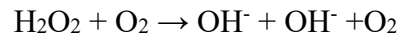
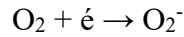
**Tablo 1.5:** Reaktif oksijen türleri ve kimyasal simgeleri <sup>148</sup>.

<b>Radikaller</b>	<b>Radikal Olmayanlar</b>
İsim (Simge)	İsim (Simge)
Hidroksil (OH)	Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
Alkoksil (RO·)	Singlet Oksijen ( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> )
Peroksil (ROO·)	Ozon (O <sub>3</sub> )
Süperoksit (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	Hipoklorit (HOCl)
Nitrik oksit (NO·)	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Nitrojen dioksit (NO <sub>2</sub> )	Peroksinitrit (ONOO·)

### 2.8.1. Süperoksit radikalleri

Canlılarda oluştuğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit radikali zayıf bir oksidandır. Mitokondride tüketilen oksijenin %1-5'i süperoksit yapımı ile sonlanmakta ve aktive olan fagositik hücrelerde fazla miktarda süperoksit üretimi olmaktadır. Antibakteriyel etki için gerekli olan süperoksit radikali, aynı zamanda daha reaktif olan radikallerin oluşumunu da tetiklemektedir. Kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemekle birlikte süperoksit radikalleri oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir. Süperoksit radikalleri çok kısa bir yarı ömre sahiptir ve dismutasyon reaksiyonu ile süperoksit radikali nden hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve oksijen (O<sub>2</sub>) üretilir. Dismutasyon reaksiyonu spontan olarak meydana gelmekte veya reaksiyon süperoksit dismutaz enzimi ile katalizlenmektedir.<sup>148, 150</sup>

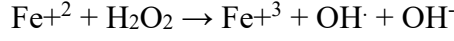
Hidrojen peroksidin kendisi serbest radikal olmasa da en reaktif serbest radikal türlerinden hidroksil radikaline otooksidasyon (Haber-Weiss reaksiyonu) yolu ile dönüşebilmektedir (Bkz. Şekil 4).



**Şekil 2:** Haber-Weiss reaksiyonu

Bu reaksiyonda süperoksit ve hidrojen peroksit etkileşerek oldukça reaktif olan hidroksil radikalleri oluşmaktadır.<sup>148</sup> Katalizörsüz gerçekleşen bu reaksiyon

oldukça yavaş olup demir ( $Fe^{+2}$ ) veya bakır ( $Cu^{+}$ ) kullanılarak reaksiyon katalizlendiğinde hem reaksiyon hızlanmakta hem de reaktif, indirgenmiş geçiş metalleri oluşmaktadır (Bkz. Şekil 5). Bu reaksiyon Fenton Reaksiyonu olarak bilinmektedir.<sup>150</sup>



**Şekil 3:** Fenton reaksiyonu

Süperoksit ve hidrojen peroksitin etkileşimi ile üretilen hidroksil radikalleri oldukça reaktif olup DNA gibi yapılarla reaksiyona girerek önemli hasara yol açabilmektedir. Hidrojen peroksit membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilmektedir. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturabilmekte, bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olduğundan hücre zarlarında lipit peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir.<sup>149</sup>

Nötrofillerin granüllerinde bulunan miyeloperoksidaz enzimi ile hidrojen peroksit, radikal olmayan ancak çok güçlü bir oksidan ve antibakteriyel ajan olan hipokloridi ( $HOCl$ ) oluşturur. Hipoklorit düşük konsantrasyonlarda dahi protein fonksiyonlarını bozabilecek güce sahiptir.<sup>150, 152</sup>

### 2.8.2. Hidroksil radikali

Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde hasara neden olan en güçlü serbest radikaldir. Hidrojen peroksitin  $Fe_2^{+}$  veya  $Cu_2^{+}$  ile reaksiyona girmesiyle (Fenton reaksiyonu sonucu) hidroksil radikali oluşmaktadır. Hidroksil radikalleri başta lipid, protein ve nükleik asitlerde (DNA ve RNA) bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olmakta, DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına yol açmaktadırlar. Hasar hücresel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyecek boyutlara ulaştığında çeşitli mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelmektedir. Hidroksil radikalının meydana getirdiği en önemli biyolojik reaksiyon, lipit peroksidasyonu olarak bilinen serbest

radikal zincir reaksiyonudur.<sup>148, 150</sup> Hidroksil radikali membran fosfolipitlerinden araşidonik asit gibi doymamış yağ asit yan zincirlerine hücum eder ve yüzlerce yağ asidi yan zincirlerini lipit hidroperoksitlere dönüştürür. Membranda lipit hidroperoksitlerinin birikimi membran fonksiyonunun bozulmasına yol açmaktadır. Peroksil radikalleri ve sitotoksik aldehitler, membran proteinlerinde ciddi hasara neden olurlar ve membrana bağlı bazı enzimleri ve reseptörleri inaktive ederler.<sup>150</sup>

ROT'lar çoklu doymamış yağ asidi moleküllerini okside ederek aldehitlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Aldehitler uzun ömürlü oldukları için hücre hasarının yayılmasına yol açmaktadır. En iyi bilinen aldehit Malondialdehit'dir. Malondialdehit membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyona yol açarak membran özelliklerini değiştirmektedir.<sup>149</sup> Oksidatif nükleik asit hasarları sonucu mutagenesis, kanserogenezis ve yaşlanma ortaya çıkmaktadır.<sup>150</sup> 8-hidroksideoksiguanozin, oksidatif DNA hasarının ölçülebilir bir göstergesidir.<sup>153</sup>

### 2.8.3. *Reaktif oksijen türlerinin ölçüm yöntemleri*

Kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan serbest radikallerin ömrü oldukça kısa olduğundan dolayı laboratuvar şartlarında ölçülmesi zordur. Genellikle spin rezonans ve spin tuzağı (trapping) metotlarıyla ölçülebilse de ölçüm teknik olarak oldukça güçtür. Bu nedenle serbest radikallere bağlı oluşan ürünlerin ölçümü daha pratik metotlardır. Serbest radikallerin en önemli etkileri lipit peroksidasyonudur. Yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu aldehitler oluşmaktadır (malondialdehit vb.). Günümüzde serbest radikal ölçümünde tibarbitrik asit reaktif maddesi, malondialdehit veya ABTS (2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin- 6-sülfonik asit) belirteçleri kullanılarak ölçüm yapılabildiği gibi <sup>154, 155</sup> 8-hidroksideoksiguanozin de kullanılabilir.<sup>156</sup>

ROT'ların hücrelerin farklı yapıları üzerinde oluşturduğu hasarı tek tek ölçebileceğimiz gibi reaktif türlerin metal iyonlarıyla oksidasyonu sonucu oluşan son ürünler de ölçülebilmektedir. Böylece hücre veya dokulardaki TOS hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir.<sup>154</sup>

## 2.9. Antioksidan Sistemler

ROT'ların oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta "antioksidan savunma sistemi" adı verilen birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir.<sup>150</sup> Bütün hücreler oksidatif strese karşı antioksidan savunma sistemlerini kullanmaktadır. Savunma sisteminde öncelikle enzim sistemi ve serbest radikal tutucuları etkili olmaktadır. Organizmada oksidan ürünlere karşı savunma sistemi serbest radikal reaksiyonlarının sonlandırılması, sınırlandırılması ve oluşan serbest radikallerin detoksifikasyonu şeklinde gelişmektedir. Antioksidanların başlıca etki mekanizmaları ise şöyledir:

- Toplayıcı etki: Serbest oksijen radikallerini tutma veya daha zayıf bir moleküle çevirme işlemidir. Antioksidan enzimler bu tip etki gösterirler.

- Bastırıcı etki: Serbest oksijen radikallerine bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif hale dönüştürme işlemidir. A vitamini ve flavanoidler bu tip etki gösterirler.

- Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerinin zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleme işlemidir. Hemoglobin, serüloplazmin, E vitamini ve mineraller bu tip etki gösterirler.

- Onarıcı etki: Serbest oksijen radikallerinin yapmış olduğu hasarı tamir etme işlemidir.<sup>150</sup>

Vücutta bulunan antioksidan maddeler ekzojen veya endojen kaynaklı olabilmektedir. Oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturan endojen antioksidanlar; enzimatik olan veya enzimatik olmayan antioksidanlar olarak 2'ye ayrılmaktadır.<sup>150, 157</sup>

Enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-s-transferaz, glutatyon redüktaz ve mitokondriyal sitokrom oksidazdır.<sup>150</sup> Enzimatik olmayan antioksidanlardan başlıcaları ise vitamin E, C, A, glutatyon, bilirubin ve albümindir.<sup>157</sup>

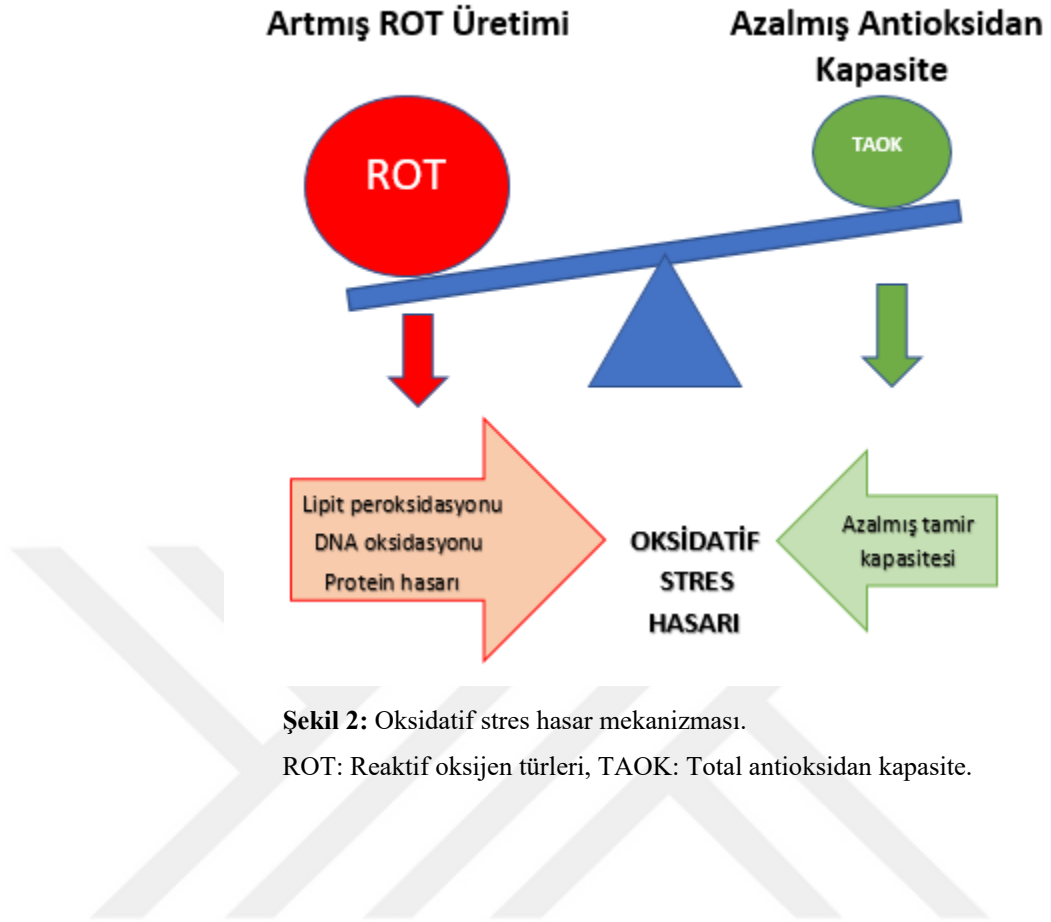
Ekzojen antioksidanlara örnek olarak E vitamini (Trolox-C), allopürinol, folik asit, asetilsistein, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antienflamatuvar ilaçlar, demir şelatörleri, mannitol ve adenozin verilebilir.<sup>150, 157</sup>

### *2.9.1. Antioksidan kapasite'nin ölçüm yöntemleri*

Kan, antioksidanların tüm vücuda dağıtılmasını ve vücutta oluşan oksidan durumun tamponlanmasında çok önemli bir rol oynamaktadır. İnsan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'ini albümin, ürik asit ve askorbik asit oluşturmaktadır.<sup>158</sup>

Plazmada antioksidanlar etkileşim içindedir ve çoğu zaman birbirleriyle sinerjik etki gösterirler. Organizmada antioksidan bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkilerin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu nedenle total antioksidan seviyenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verir. Ayrıca antioksidanların tek tek ölçülmesi, zaman alıcı, pahalı ve karmaşık teknikler gerektirmektedir. Bu yüzden biyolojik sıvıların antioksidan düzeyini saptamada sınırlı antioksidanlardan ziyade bütün antioksidanların miktarını veren TAOK ölçümü giderek daha çok kabul görmektedir.<sup>159, 160</sup>

Oksidatif stres; ROT'ların, antioksidan kapasiteyi aşması durumudur. Aşırı ROT üretimi veya antioksidan tampon mekanizmasının eksikliği sonucu oluşmaktadır. Bu nedenle oksidatif stresin ölçümünde oksidan ve antioksidanlar arasındaki denge göz önüne alınmaktadır (Bkz. Şekil 4).



### 2.10. Kronik Periodontitisin Cerrahisiz Periodontal Tedavisi

Periodontal hastalığın ana etiyolojisini MDP oluşturmaktadır. Periodontal tedavide etiyolojik ve yardımcı faktörlerin azaltılması ve eliminasyonu (tam bir debridman sağlanması, çürük lezyonlarının tedavisi, oklüzal uyumlamaların yapılması, hatalı restorasyonların düzeltilmesi vb.) ile hastalığın durdurulması ve hastalık sonucu kaybedilen periodontal dokuların hastalanmadan önceki yapısına benzer şekilde rejenerasyonunun sağlanması amaçlanmaktadır. Periodontal tedavide hedef hastanın cep derinliklerinin ağız hijyenini sağlayabileceği fizyolojik sınırlara getirilmesidir.<sup>161</sup> Periodontal tedavi hastaya sağlıklı bir ağız ortamının sağlanması ve bu ortamın korunması için hastanın kapsamlı günlük plak kontrolünü aksatmaması yanı sıra hekim tarafından belirli aralıklarla kontrollerin yapılmasını içermektedir.<sup>162</sup>

Periodontal tedavi 4 ana fazda ele alınmaktadır. Birinci faz; başlangıç tedavisi, CPT, neden ilişkili periodontal tedavi ve faz I tedavi olarak da adlandırılmaktadır. Faz II tedavi; cerrahi periodontal tedavi fazı, faz III tedavi; restoratif faz ve faz IV tedavi;

idame periodontal tedavi fazıdır. CPT tek başına bir tedavi yöntemi olmakla birlikte diğer tedavi fazlarının temelini oluşturur. Tam bir plak kontrolü, diş yüzeyi temizliği (DYT), kök yüzeyi düzleştirilmesi (KYD) ve lokal etiyolojik faktörlerin ortadan kaldırılmasını içeren bu faz tüm periodontal hastalıkların ve cerrahi işlemlerin ilk basamağı ve temeli olarak kabul edilmektedir.<sup>163</sup>

Amerikan Periodontoloji Akademisi CPT fazında;

- Sistemik risk faktörlerinin belirlenmesi ve kontrol altına alınması hususunda hastanın yönlendirilmesini,

- Çevresel faktörlerin değiştirilmesini,

- Hastaya plak kontrolünün öğretilmesini,

- Diş yüzeyinden MDP ve diş taşının uzaklaştırılmasını,

- MDP örnekleme ve antibiyotik hassasiyet testlerinden sonra uygun antimikrobiyal ajan ve lokal salınım sistemlerinin kullanımını,

- Uygun olmayan restorasyonların yenilenmesini, çürüklerin tedavisini, ümitsiz dişlerin çekimini, oklüzal travmanın ve gıda sıkışması olan alanlar gibi lokal faktörlerin kontrolünü veya ortadan kaldırılmasını önermektedir.<sup>162</sup>

CPT'nin hedefi etkili bir plak kontrolünün sağlanması, ağız hijyen motivasyonu ile dental plağı ve cep içerisindeki periodontopatojenlerin azaltılması veya tamamen ortadan kaldırılmasıdır. Bu nedenle periodontal hastalığın tedavisinde tüm yaklaşımlar supragingival ve subgingival plağı oluşturan bakteriyel birikimin diş yüzeyinden mekanik olarak uzaklaştırma (DYT ve KYD) işlemlerini içerir.<sup>164-166</sup> DYT, supragingival ve subgingival diş yüzeylerinden plağın ve diş taşının kaldırılması, KYD ise derin periodontal ceplerdeki yapısı bozulmuş sementi ve sement içine gömülmüş artık diş taşlarını, MDP'yi ve bakteriyel toksinleri kök yüzeyinden uzaklaştırarak, sert, pürüzsüz ve temiz bir yüzey oluşturma işlemidir.<sup>1</sup> CPT'de hastalıklı kök yüzeyinin temizliği için el aletleri (Gracey küretleri vb.) ve/veya ultrasonik aletler (sonik ve ultrasonik scaler gibi) sıklıkla kullanılmaktadır.<sup>167</sup> Araştırmacılar periodontitisli bireylerde CPT sonrası SCD'de ve KAS'da, gingival



indeks skorlarında ve sondalamada kanamada ciddi düzelme olduğu konusunda hem fikirdirler.<sup>164-166, 168</sup>

CPT protokollerinde geçmişten günümüze kadar çeşitli değişimler olmuştur. 1970'li yıllarda DYT ve KYD işlemleri gingival küretajla birlikte yapılmaktaydı. Gingival küretaj yani cebin yumuşak doku duvarının kaldırılması işlemiyle yeni ataşman oluşumunu hızlandırmak ve doku büzülmesi sağlanarak cep derinliğinin azaltılması amaçlanmaktaydı. 1980'lerin başında yapılan bir split mouth bir çalışmada DYT ve KYD işlemlerinden 4 hafta sonra yapılan gingival küretajın küretaj yapılmayan kontrol grubu ile benzer periodontal doku iyileşmesi gösterdiği, her iki grupta da benzer şekilde cep derinliklerinde ve gingival enflamasyonda azalma ve KAS' da artış sağlandığı gösterilmiştir.<sup>169</sup> Sonuç olarak gingival küretajın periodontal doku iyileşmesi üzerine ek bir fayda sağlamadığı sonucuna varılmış ve bu uygulama terk edilmiştir. Plak ve diş taşı mine üzerinde oluştuğunda, genellikle diş yüzeyine yüzeysel tutunurlar ve yüzeydeki bozukluklara penetre olmazlar. Bu durumda sadece diş taşı temizliği, mine yüzeyinden plağı ve diş taşını kaldırıp pürüzsüz ve temiz bir yüzey oluşturmada tek başına yeterli olmaktadır.<sup>1</sup> Kök yüzeyindeki diş taşı ve plak birikimleri ise sıklıkla sement üzerindeki yüzey bozuklukları içine gömülmüşlerdir.<sup>1</sup> Dentin açığa çıktığında, plak bakterileri dentin tübüllerine invaze olabilir. Ayrıca kök yüzeyi, cep ortamına maruz kaldığında, endotoksinler gibi toksik ürünlerle kontamine olabilmektedir. Bu durumda diş taşı temizliği tek başına yeterli olmamaktadır. Bu depozitleri elimine etmek için kök yüzeyinin bir kısmının kaldırılması gerektiği belirtilmiştir.<sup>1</sup> 1970 ve 1980'lerde CPT'de supragingival ve subgingival diş taşı, plağın ve hastalıklı kök sementinin kaldırılması amacıyla el aletleri kullanılmakta, DYT ve KYD işlemleri kontamine kök yüzeylerine sıkı şekilde bağlanmış bakteriyel ürünlerin (LPS gibi) kaldırılabilmesi amacıyla agresif şekilde yapılmaktaydı.<sup>170</sup> Daha sonraları yapılan in vitro çalışmalarla gösterildi ki bakteriyel endotoksinler kök yüzeylerine zayıf penetrasyon göstermekte ve bakteriyel ürünleri kaldırmak amacıyla aşırı sement kaldırılması gerekmemektedir.<sup>171-173</sup> İn vivo yapılmış başka bir çalışmada KYD yapılmaksızın açık flap operasyonu ile görünür eklentilerin kaldırılması ve subgingival bakteri plağının elimine edilmesi sonrası periodontal klinik parametrelerde CPT ile benzer sonuçlar elde edildiği gösterilmiştir. Aynı çalışmada periodontal tedavinin başarısı hastalıklı kök sementi ve mineralize dokuların KYD

işlemleriyle kaldırılmasından ziyade gram (-) anaerop mikroorganizma sayısında azalma sağlanmasına bağlı bulunmuştur.<sup>174</sup>

Buradan başarılı bir tedavi için ana plak tutucu faktör olan diş taşının kaldırılmasının önemli olduğu bilinmekle birlikte kök yüzeylerinin ve kontamine sementin agresif biçimde kaldırılmasına ihtiyaç olmadığı sonucu çıkmaktadır. Bu nedenle KYD işlemi günümüzde sıklıkla kök debridmanı olarak anlaşılmaktadır. CPT'nin kök yüzeylerinin zarar görmesi ve dentin hassasiyeti gibi istenmeyen etkileri olabilir.<sup>175</sup> Travma, ataşman kaybı ve kök yüzeyi hassasiyeti oluşturma olasılığını azaltmak için 3mm den sığ ceplerde aşırı debridman yapılmaması önerilmektedir.<sup>176</sup>

CPT seanslarının planlamasında farklı uygulamalar bulunmaktadır. "Geleneksel debridman"da 1-2 haftalık aralıklarda her bir çeyrek çene aşamalı olarak tamamlanmaktadır. "Tek aşamalı tüm ağız dezenfeksiyon işlemi" ise Quirynen ve ark.<sup>177</sup> tarafından önerilen 24 saat içinde 2 seansta tüm ağız debridman işleminin (tüm plak ve diş taşının kaldırılması) yapılmasının ardından subgingival cep içinin %1'lik klorheksidin solüsyonla yıkanması, hastanın günde 2 kez %0.2'lik klorheksidinle gargara yapması, dilini %1'lik klorheksidin jelle fırçalanması ve tonsillere klorheksidin sprej uygulanmasını içeren tedavi protokolüdür. Bu protokolda tedavi edilmemiş ceplerden kaynaklanacak reenfeksiyonun önlenmesi amaçlanmaktadır. Aynı grup araştırmacı yapmış oldukları başka bir çalışmada test grubunda klorheksidin kullanılmaksızın 24 saat içinde gerçekleştirilen tek aşamalı tüm ağız dezenfeksiyon işlemi ile geleneksel debridman yapılan gruba benzer klinik sonuçlar elde ettiklerini göstermişlerdir. Araştırmacılar buradan klorheksidinsiz gerçekleştirilen tek aşamalı tüm ağız dezenfeksiyonu ile elde edilen başarının 24 saat içerisinde tamamlanan "tek aşamalı tüm ağız debridmanı"ndan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.<sup>178</sup> İki sistematik derleme bu 3 tedavi yaklaşımını da CPT içinde yer alabileceğini önermektedir. Teknolojik ilerlemeler sayesinde CPT uygulamalarında farklı enstrümanlar ve yeni teknikler geliştirilmektedir. Ancak CPT'de başarının anahtarı tedavi modülünden çok kök debridmanının eksiksiz yapılması ve hastanın standart ağız hijyen uygulamalarını yapmasına bağlı bulunmuştur. Bu nedenle hekimin hangi CPT protokolünü (geleneksel aşamalı debridman, tek aşamalı tüm ağız dezenfeksiyon ve tek aşamalı tüm ağız debridman) uygulanacağını hasta ile birlikte belirleyebileceği belirtilmektedir.<sup>179, 180</sup>

Badersten ve ark.<sup>181, 182</sup> CPT’de el aletlerinin kullanımının diş taşının kaldırılması üzerine etkisinin başlangıç cep derinliğine, diş tipine, diş yüzeyine ve hekimin deneyimine bağlı olduğunu bildirmiş, cep derinliği arttıkça ulaşımın zorlaştığı ve 6 mm üstünde ki ceplerde %44 oranında kök yüzeylerinde diş taşı kaldığını göstermişlerdir. CPT, özellikle derin ceplerde uygulama zorluğuna karşın, subgingival alanda biyofilm ve kalsifiye eklentilerin kaldırılması ile beraber cep derinliğinde azalmaya neden olabilmektedir.<sup>183</sup> Ancak CPT’nin başarısını etkileyen faktörler vardır. Bunlar; kök anatomisi, furkasyon tutulumu varlığı, mevcut periodontal cebin derinliği, kemik defekti morfolojisi, dişlerin çene arkı içindeki pozisyonu ile hekimin bilgi ve becerisidir.<sup>184, 185</sup> Derin periodontal ceplerde, furkasyon bölgeleri ve kök yüzeylerindeki yiv ve oluklar gibi ulaşılması zor bölgelerde bulunan MDP tam olarak elimine edilememekte, dentin tübülleri ve diş etine invaze olan olası periodontopatojenler rekolonize olarak periodontal hastalık tekrarlayabilmektedir.<sup>186</sup> Bu nedenle CPT’nin ilave antimikrobiyal ajan veya yöntemlerle desteklenmesi gerekebilmektedir.

### *2.10.1. Cerrahisiz periodontal tedaviye ilave yöntemler*

*Aa, Pg, Td ve Fn* gibi konak dokusu hücrelerine invaze olabilme yeteneğine sahip bakteriler veya ulaşılabilen kök yüzeylerine yerleşmiş mikroorganizmaların cep ortamını yeniden enfekte edebildiği ve periodontal hastalıklarda tek başına uygulanan mekanik debridmanın periodontal ceplerin eliminasyonunda yeterli olmayabileceği literatürde rapor edilmiştir.<sup>187, 188</sup> Derin periodontal ceplerde, mekanik debridman yetersiz kaldığından, antimikrobiyal ajanların tedaviye ek olarak kullanılabilmesi ve bu ajanlarla yapılan subgingival uygulamaların, mekanik debridman sonrası cep içinde kalan mikroorganizmaları elimine ederek tedavi başarısının artırılabilmesi ileri sürülmüştür.<sup>186, 187</sup> Derin dokulara penetre olmuş mikroorganizmaları yok etmek, konağın kemik kaybına direncini arttırmak, periodontal cerrahiye duyulan gereksinimi azaltmak veya ortadan kaldırmak için KYD sonrası antimikrobiyal ve kemoterapötik ajanlar CPT’ye ek olarak kullanılmaktadırlar.<sup>186</sup> Ayrıca konak cevabı aşırı olan bireylerde, mikroorganizmalar hedef alınmaksızın, konağın MDP’ye cevabını yönlendiren konak modülasyon ajanları

da CPT'ye ilave uygulanabilmektedir. Antimikrobiyal ajanların periodontal hastalıklarda sistemik ve lokal olmak üzere iki tip uygulama yöntemi bulunmaktadır. Kemoterapötik lazerler, fotodinamik tedavi (FDT) ve ozonun CPT'ye ilave kullanımları gündemdedir. Tüm ilave yöntemlerin belirli avantajları olmasına karşın mevcut dezavantajları yeni tedavi yöntemlerin geliştirilmesini gerekli kılmaktadır.

### *Sistemik İlaç Uygulaması*

Sistemik ilaç uygulaması genel olarak sistemik antibiyotik kullanımını içermektedir. Sistemik uygulanan antibiyotikler vücudun geneline dağılmakta, vücudun farklı bölgelerinde çeşitli konsantrasyonlarda bulunmakta, periodontal dokulara ve periodontal cebe serum yoluyla girerek, el aletlerinin ulaşamadığı mikroorganizmaları etkileyebilmektedirler.<sup>186, 188</sup> Özellikle inatçı veya tekrarlayan periodontitis, agresif periodontitis hastalarında, akut periodontal durumlarda (örneğin: nekrotizan ülseratif gingivitis ve periodontitis, periodontal apse) sistemik antibiyotik uygulamalarının destekleyici bir etkinlik ortaya koyduğu düşünülmektedir.<sup>189</sup> Sistemik antibiyotik uygulaması derin ceplerde, kök furkasyon alanlarında, konkaviteelerde veya periodontal dokuların içinde kalan, el aletleriyle ulaşamamış biyofilmi baskılama amacıyla kullanılmaktadır. Periodontal tedavide kullanılacak ideal bir antibiyotik periodontopatojene spesifik olmalı, toksik olmamalı ve diğer hastalıkların tedavisinde genel kullanımda olmamalıdır. Periodontal cep içerisindeki her patojenin farklı antibiyotiklere aynı oranda duyarlı olmayışı ve hastaların farklı periodontopatojen profillerine sahip oluşu periodontal tedavide uygun antibiyotiğin seçiminde göz önünde tutulması gereken durumlardır.<sup>186</sup> En etkin antibiyotiğin belirlenmesinde mikrobiyal floranın belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Yıkıcı periodontal hastalıkların kompleks mikrobiyal doğası antibiyotik kullanımını öncesi mikrobiyolojik analizleri gerekli kılar. Bu analizler, kültür testleri, nükleik asit tabanlı tanı testleri ve antimikrobiyal yatkınlık testlerini içerir. Sistemik antibiyotiklerin mikrobiyolojik test ile gösterilmiş yüksek miktarda olası periodontopatojen (*Aa* ve *Pg* gibi) bulduran seçilmiş hastalara veya agresif periodontitiste CPT'ye ilave olarak uygulanması tavsiye edilmektedir.<sup>190</sup> Amoksisilin, azitromisin, spiramisin, tetrasiklin, klindamisin, doksisisiklin, metronidazol,

amoksisilin-klavulanik asit kombinasyonu kronik ve agresif periodontitisli hastalarda klinik çalışmalarda DYT/KYD'ye ilave kullanılan antibiyotikler olup en yaygın kullanım metronidazol ve amoksisilin kombine kullanımındır.<sup>191</sup>

Periodontal hastalığın etiolojisinde farklı antimikrobiyal duyarlılıktaki periodontopatojenler rol oynadığından, periodontitis tedavisinde kombine antibiyotik uygulaması ile faydalı sonuçlar elde edilebilmektedir. Kombine antibiyotik tedavisi dirençli bakterilere karşı farklı etki mekanizmalarına sahip ajanların birlikte kullanılması avantajı sağlamaktadır. Kombinasyon tedavisi ile kullanılan ilaçlar arasında sinerjik etki elde edilebilir. Örneğin; metronidazol-amoksisilin ve metronidazol-siprofloksasin kombinasyonları *Aa* ve diğer periodontopatojenler üzerinde sinerjik etkiler oluşturmaktadır.<sup>192</sup> Bununla beraber, bazı antibiyotiklerin beraber kullanımı antagonistik etkileşim meydana getirir. Örneğin; bakteriyostatik olan tetrasiklinler ile bakterisidal etkinlik gösteren penisilinlerin birlikte kullanımı oluşan antagonizme bir örnektir.<sup>193</sup>

Sistemik olarak kullanılan antibiyotikler, geniş alana yayılan mikroorganizmalara ulaşabilir. Çalışmalar periodontal bakterilerin, bazı hastalarda dişler haricinde dil sırtı, tonsillalar ve yanak mukoza olmak üzere tüm ağıza yayıldığını göstermiştir.<sup>13</sup> Sistemik uygulanan antibiyotiklerin periodontal hastalıklı bölgelerin tümüne ulaşabilmesi, oral mukoza ve tonsil gibi bölgelerdeki patojenlere de etki edebilmesi gibi topikal antimikrobiyal uygulamalara kıyasla avantajları bulunmaktadır. Bu sayede ağzın çeşitli bölgelerindeki patojenlerin ortadan kaldırılması ile birlikte gelecekteki bakteri rekolonizasyonu ve hastalığın tekrarlama riski de azaltılmış olmaktadır. Ancak sistemik antibiyotik kullanımının birtakım dezavantajları vardır. Alerjik/anafilaktik reaksiyonlar gelişmesi, gastrointestinal sistem rahatsızlıkları yanı sıra DOS'da istenen ilaç konsantrasyonlarına ulaşılması için yüksek doz kullanım gerekliliği ve antibiyotiklere karşı dirençli bakteri türlerinin gelişmesi sistemik antibiyotiklerin dezavantajlarındandır.<sup>194</sup>

Sistemik antibiyotiklerin periodontal tedaviye ek kullanımları uzun dönemdir tartışılmaktadır. Çalışma dizaynlarındaki heterojeniteler hangi ilacın uygun dozlarının klinik fayda sağladığını belirlememizi zorlaştırmaktadır. Günümüzde kronik periodontitisin tedavisinde altın standart olarak kullanılan mevcut bir antibiyotik

olmamakla birlikte klinisyenlere hastanın hastalık öyküsünü, klinik bulgu ve semptomlarını, yardımcı muayene araçlarını kullanarak (BANA testi vb.) ve mümkünse mikrobiyolojik örnekleme yaparak ayrıca hastanın medikal durumunu göz önünde bulundurup olası yan etkileri değerlendirerek uygun antibiyotiği seçmesi tavsiye edilmektedir.<sup>186</sup>

### *Lokal İlaç Uygulaması*

Periodontal hastalığın tedavisinde lokal ilaç uygulamaları periodontal cep içi irrigasyon yapılması, ilaç içerikli merhem, jellerin veya devamlı ilaç salınımı yapan mikrokapsül, fiber ve çiplerin cep içerisine yerleştirilmesi gibi farklı uygulamaları içerir.<sup>195</sup>

Yapılan çalışmalarda sistemik uygulanan antimikrobiyallerin periodontal cepte istenilen etkin konsantrasyona ulaşamadığı gösterilmiştir.<sup>196, 197</sup> Sistemik antibiyotik kullanımına bağlı çeşitli yan etkiler oluşmaktadır. Ayrıca ilacın kullanım şekli ve dozunun hastanın kontrolünde olduğundan takibi zordur.<sup>198</sup> Bu sebeplerden periodontal cep içerisine lokal antimikrobiyal ajanların kullanımı gündeme gelmiştir.

Lokal antibiyotik uygulamasında tetrasiklin fiberler, doksisisiklin jel, metronidazol jel ve minosiklin merhemler kullanılmaktadır. Lokal antibiyotik uygulamalarında, antimikrobiyallerden enfeksiyon alanına etkinlik gösterebileceği konsantrasyona uygun zamanda ulaşabilmesi, minimum yan etki göstermesi veya hiç yan etki göstermemesi beklenmektedir.<sup>186</sup>

Yayınlanan bir derlemede 19 çalışmanın meta analizi gerçekleştirilmiş ve DYT/KYD ve lokal, devamlı salınım yapan ajanlar yalnızca DYT/KYD ile kıyaslanmış ve minosiklin jel, mikro-enkapsüle minosiklin, klorheksidin çip ve doksisisiklin jelin cep derinliğini azaltmada veya klinik ataşman kazancında ek faydası bulunduğu gösterilmiştir.<sup>199</sup> 2005 yılında yayınlanan başka bir derlemede ilave tetrasiklin, minosiklin, metronidazol ve klorheksidin uygulamalarının cep derinliklerini azaltmada az bir miktarda da olsa tek başına uygulanan DYT/KYD'ye üstün olduğu bildirilmiştir.<sup>200</sup>

Tüm bu lokal uygulanan antimikrobiyal ajanlardan beklenen fayda ilacın etkin olduğu konsantrasyonunun zamanla azalmadan cep içinde kalabilmesine bağlıdır. Ayrıca bu lokal uygulanan yavaş salınım yapan antimikrobiyal ajanların yerleştirilmesi zaman alıcıdır ve bazı ajanların bir süre sonra cep içinden çıkarılması gerekmektedir. Bu da hasta uyumunu etkileyen bir faktördür. Ağızda fazla sayıda dişe antimikrobiyal ajan yerleştirilmesi durumunda oral kandida enfeksiyonu gelişme riski bulunmaktadır.<sup>186, 201</sup>

Lokal uygulamada cep içi irrigasyon ajanları da kullanılmaktadır. Antiseptikler, canlı dokulara uygulanan mikroorganizmaların büyümesini ve faaliyetlerini durduran ajanlardır. Antiseptiklerin supragingival ve subgingival olmak üzere iki tip uygulanma şekli vardır. Antiseptiklerin supragingival olarak diş macunları ve gargara şeklinde kullanımları mevcutken subgingival olarak şırınga, nabızsal basınçlı irrigasyon cihazı yardımı ile ya da ultrasonik aletlerle DYT/KYD yapıldığı esnada soğutucu olarak da kullanılabilirler. Yapılan çalışmalarda nabızsal basınçlı irrigasyon cihazı ile 6 mm'den derin olmayan ceplerde penetrasyonun yarı yarıya olduğu bulunmuştur.<sup>202</sup>

Klorheksidin diglukonat periodontal tedavide yaygın olarak kullanılan antiseptik bir ajandır. Klorheksidin, plak kontrolünde en etkili kimyasal ajan olarak görülmektedir ve 30 yılı aşkın bir süredir antiplak ve antigingivitis ajan olarak kullanılmaktadır.<sup>203</sup> Katyonik bir bisguanid olan klorheksidin doza bağlı olarak bakteriyostatik veya bakterisit etkinlik göstermektedir. Düşük dozlarda mikroorganizmada membran geçirgenliğini arttırarak bakteriyostatik etkinlik gösterirken yüksek dozlarda sitoplazmik proteinlerin çökmesine ve bakterinin ölümüne neden olmaktadır. Klorheksidin antimikrobiyal etkinliği yanında hidroksiapatit diş yüzeylerine bağlanarak plak oluşumunu önleyici; antiplak etkinliği bulunmaktadır. Klorheksidin ayrıca tükürük proteinlerine bağlanarak pelikül oluşumunu da önlemektedir. Bununla birlikte oral dokulara dönüşümlü olarak bağlanıp yavaş salınım gösterdiği, bu sayede antimikrobiyal etkinliğini sürdürdüğü bilinmektedir. Klorheksidin doza bağlı olarak PMNL'lerden salınan MMP-8'in inhibisyonu ile kollajenolitik aktiviteyi baskılamaktadır.<sup>204</sup>

CPT’de klorheksidin farklı metotlarla ve farklı dozlarda kullanılabilir. Farklı klorheksidin uygulamalarının belirli avantajları olmasına karşın bazı dezavantajları da bulunmaktadır. İntraoral yumuşak ve sert dokulara bağlanarak ağızda uzun süre etkin kalabilen klorheksidin subgingival irrigasyon amacıyla kullanımında tükürük ve serum proteinlerine olan yüksek ilgisi yüzünden cep içi konsantrasyonu çok hızlı düşmekte ve yeterli antimikrobiyal etkinlik gösterememektedir.<sup>205</sup> Gargara olarak kullanılan klorheksidin dozu %0.2 ve %0.12’dir.<sup>190</sup> Bu dozların uzun süre kullanımı tat bozukluğu, dişlerde boyanma ve en önemlisi mukozal erozyon gibi istenmeyen yan etkilere neden olabilir.<sup>206</sup> Klorheksidin solüsyonlar; düşük konsantrasyonlu klorheksidin içerirler bu yüzden periodontal cep içinde yeterli süre kalamamakta ve subgingival irrigasyon sonrası etkinlikleri hızla azalmaktadır.<sup>207, 208</sup> Klorheksidin jel, klorheksidin solüsyonundan 5-15 kat daha viskozdur. Jelin yüksek viskozitesinden dolayı periodontal cepten aktif ajanın yıkanması daha yavaş olur. Bu sayede jelin cep içinde kalma süresi ve bakteri ile temas süresi uzamış ve lokal bakterisidal etki için uygun şartlar sağlanmış olur.<sup>207-209</sup> Klorheksidin çip 2.5 mg klorheksidin içermekte, cep içinde yavaş salınım göstermekte ve biyolojik olarak rezorbe olabilmektedir. Periodontal cep içerisine klorheksidin çip uygulaması ile DOS’taki yüksek klorheksidin konsantrasyonu 8-10 gün süreyle korunmakta böylece olası periodontopatojenler üzerine antimikrobiyal etkinliğin devamlılığı sağlanmaktadır.<sup>210</sup> KYD’ye ilave klorheksidin çip kullanımının cep derinliği, sondalamada kanama gibi bazı klinik parametrelerde önemli oranda düzelme sağladığı ancak klinik ataşman düzeyine önemli etkisinin olmadığını gösterilmiştir.<sup>200, 211</sup> Bununla birlikte klorheksidin çip kullanımının klinik ve mikrobiyolojik ek fayda sağlamadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur.<sup>212, 213</sup>

### *Lazer*

“Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation”kelimelerinin ilk harflerinden oluşturulan LASER terimi, dilimize LAZER olarak girmiş, ‘radyasyonun uyarılmış emisyonu ile ışığın güçlendirilmesi’ anlamına gelmektedir. Lazer cihazında bir optik boşluk vardır. Bu boşluğun içerisinde katı, sıvı veya gaz (karbondioksit, argon vb.) halinde lazer tüpü bulunur. Lazer cihazları, içinde bulunan bu maddeye göre



isimlendirilir. Diş hekimliğinde kullanılan, kaynaklarına ve buna bağlı olarak farklı dalga boyuna sahip lazerler: neodyum: itriyum alüminyum-garnet lazer (Nd: YAG lazer), 1064 nm dalga boyu, karbondioksit lazer, 10600 nm dalga boyu, erbiyum: itriyum alüminyum-garnet lazer (Er:YAG lazer), 2940 nm dalga boyu, erbiyum, kromyum: itriyum selenyum-galyum garnet lazer (Er,Cr:YSGG lazer), 2780 nm dalga boyu) ve diyot lazerler, 635-950 nm dalga boyu olarak sınıflanmaktadır.<sup>214</sup> Periodontolojide lazer cep içi dezenfeksiyonu, yumuşak ve sert doku cerrahi uygulamaları, deepitelizasyon, granülomatöz dokuların uzaklaştırılması ve malign lezyonların insizyonel ve eksizyonel biyopsileri, aftöz ülserlerin tedavisi ve depigmentasyon gibi çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır.<sup>215</sup> CPT’de lazer kullanımının avantajı güçlü bakterisidal ve detoksifikasyon etkileriyle birlikte, başarılı doku ablasyonu yapması ve konvansiyonel mekanik enstrümanların ulaşamadığı alanlara ulaşabilmesidir. Lazerler konvansiyonel mekanik tedavide bakteriyel ve enflamatuvar maddeler içeren ve periodontal dokuların iyileşmesini olumsuz etkileyen smear tabakası oluşturmaksızın detoksifikasyon sağlamakta ve antimikrobiyal etki göstermektedir.<sup>214</sup> Ayrıca dokuda kesme veya ablasyona neden olmadan, biyostimülasyon ve cep içi dekontaminasyon yapılması amacıyla düşük doz lazerler CPT’de uzun zamandır kullanılmaktadır.<sup>216</sup>

Er:YAG lazerlerin CPT’de kullanımına 90’lı yıllarda başlanmış olup klinik etkinliği halen tartışmalıdır. Crespi ve ark.<sup>217</sup>’nin yaptığı randomize klinik bir çalışmada kronik periodontitisli hastaların CPT’inde tek başına Er:YAG lazer kullanımının ultrasonik cihazla yapılan debridmana orta ve derin ceplerde SCD ve KAS açısından üstün bulunduğunu göstermişlerdir. Sağlam ve ark.<sup>218</sup> sadece DYT/KYD yapılan kontrol grubuna kıyasla periodontal cep içerisine ilave olarak diyot lazer uygulaması ile periodontal klinik parametreler açısından daha iyi sonuçlar elde edildiğini belirtmişlerdir. 2008 yılında yapılmış sistematik bir derlemede Er:YAG lazerin CPT protokolünde DYT/KYD’ye alternatif olarak tek başına kullanılmasının DYT/KYD işlemlerine kıyasla kısa ve uzun dönemde benzer klinik sonuçlar oluşturduğu ancak çalışmalarda heterojeniteler bulunduğu ve iyi dizayn edilmiş daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu belirtilmiştir.<sup>219</sup> Aynı derlemede Nd: YAG, CO<sub>2</sub> ve farklı dalga boylarındaki diod lazerlerin klinik uygulamada üstünlüğünü gösterebilecek yeterli kanıtların olmadığı da belirtilmiştir.<sup>219</sup> Daha sonra yapılan bir

sistematik derlemede 5 adet randomize kontrollü split mouth dizaynda yapılmış çalışma incelenmiş ve kronik periodontitis tedavisinde DYT ve KYD işlemine alternatif bir tedavi yöntemi olarak Er:YAG lazer kullanımı araştırılmıştır. Yapılan meta analiz sonucu Er:YAG lazerin geleneksel uygulamaya klinik bulgular açısından herhangi bir üstünlük göstermediği bildirilmiştir.<sup>220</sup>

Lazer kullanımının dikkat, bilgi ve beceri gerektirmesi ve periodontal tedavi maliyetini yükseltmesi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Lazerler ile yapılacak tedaviler sırasında, lazerin dokuya temas ettiği anda meydana gelebilecek etkileri bilmek gerekmektedir. CO<sub>2</sub>, Nd:YAG, Argon gibi yumuşak doku lazerleri sert dokularda karbonizasyon, erime, çatlama gibi termal zararlara yol açabilmekte ve yumuşak dokularda denatürasyon yaparak iyileşmeyi bozabilmektedir. Bu nedenle doğru lazer tipinin, doğru parametrelerde ve endikasyonda kullanılması, ayrıca hasta, operatör ve yardımcı sağlık personelinin koruyucu gözlük takarak kendilerini korumaları ve uygulama alanı dışındaki diğer dokuların korunması gerekmektedir.<sup>221, 222</sup>

### *Fotodinamik Tedavi*

Antimikrobiyal FDT; ışığa duyarlaştırıcı bir fotosensitizerin (metilen mavisi, toluidin mavisi vs.) hedef hücrelere bağlanmasının ardından uygun dalga boyundaki ışık kaynağıyla (diod lazer, He-Ne lazer vs.) sensitizerin aktive edilmesi sonucu mikroorganizmalar için son derece toksik olan oksijen radikallerinin ve reaktif ajanların üretilmesi prensibine dayanır. Antimikrobiyal FDT'nin tek başına veya DYT/KYD'ye ilave kullanımı 1990'ların sonunda başlamıştır. CPT'ye ilave olarak FDT uygulamasının kısa dönem klinik ve mikrobiyolojik parametreler üzerine olumlu etkileri bulunurken<sup>223</sup>, uzun dönemde bu etkilerin ortadan kalktığı gözlenmiştir.<sup>224</sup>

Son yıllarda yayınlanmış bir derlemede FDT'nin DYT/KYD'ye ilave kullanımını klinik ve mikrobiyolojik sonuçlarını inceleyen paralel dizayn 7 randomize kontrollü çalışma incelenmiş, FDT'nin kısa dönemde klinik bulgulara fayda sağladığı ancak mikrobiyolojik sonuçların farklı olduğu ve uzun dönemli

çalışmalara ihtiyaç bulunduğu bildirilmiştir.<sup>225</sup> Ayrıca fotosentizerlerin fototoksik ve fotoalerjik yan etkileri bulunabileceği konusunda klinisyenler uyarılmıştır.<sup>226</sup>

### *Ozon Tedavisi*

Ozon, üç oksijen atomundan oluşan, doğada gaz halinde bulunan analjezik, immün sistemi uyarıcı ve antimikrobiyal etkili bir moleküldür. Ozon, bakterilerin hücre duvarı ve membranlarını okside ederek parçalamaktadır. Ozonun sıvı ve gaz formları; bakteri, virüs, protoza ve mantarlara karşı antimikrobiyal etkinlik göstermektedir.<sup>227</sup> Bu etkinliği dışında hematopoezin artırılması, detoksifikasyon, analjezik ve immünmodülatör etkinliği sayesinde araştırmacılar ozonun hem diş hekimliğinde hem de tıp alanında kullanılabilecek alternatif bir tedavi yöntemi olabileceğini bildirmişlerdir.<sup>228</sup>

Oral dokulara ozon 3 farklı formda uygulanabilmektedir. Bunlar:

- Ozonlanmış su
- Ozonlanmış zeytinyağı
- Oksijen/ozon gazı şeklindedir.<sup>229</sup>

Ramzy ve ark.<sup>230</sup> agresif periodontitisli hasların periodontal ceplerine 4 hafta süreyle haftada bir kez 5-10 dakikalık süreçlerde 150 mililitre (ml) ozonize su ile irrigasyon yaptıkları çalışma sonucunda cep derinliğinde, gingival indeks ve plak indeksinde iyileşme ve bakteri sayısında azalma saptamışlardır. Kshitish ve ark.<sup>228</sup> kronik ve agresif periodontitisli 16 hastada ozonize suyun klinik ve mikrobiyolojik etkinliğini klorheksidinle kıyasladıkları split mouth çalışmada farklı zaman aralıklarında ozonize su ve klorheksidini subgingival olarak uygulamışlar, alınan subgingival mikrobiyal plak örneklerinde ozon tedavisinin klorheksidine kıyasla *Aa*'yı istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı ancak *Tf* ve *Pg* üzerine etkinlik göstermediğini bildirmişlerdir.

Skurska ve ark.<sup>231</sup> ise DYT/KYD'ye ek olarak ozonize su uygulanan kronik periodontitis hastalarında tükürük MMP seviyesinde artış gözlenirken, generalize agresif periodontitis hastalarında ise tükürük MMP seviyesinde azalma tespit etmişler

ve DYT/KYD'ye ek olarak uygulanan ozonize suyun klinik olarak ek bir katkısının olmadığı belirtilmiştir. Ozonun periodontopatojenik mikroorganizmalar üzerinde güçlü bir antimikrobiyal etkinliğinin olduğunu, ancak bu etkinin serum varlığında azaldığı da bildirilmektedir.<sup>232</sup> Literatürde CPT'ye ilave ozon kullanımının etkinliğini araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmakta ve periodontoloji alanında yapılmış, iyi dizayn edilmiş daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

CPT'ye ilave uygulanan antibiyotik, antiseptik ve kimyasal olmayan yöntemlerden hangisinin daha etkin olduğu ve CPT'nin uzun dönem sonuçları üzerinde bu yöntemlerin etkinliğinin belirsiz oluşu yeni yöntemlerin araştırılmasını gerekli kılmaktadır.

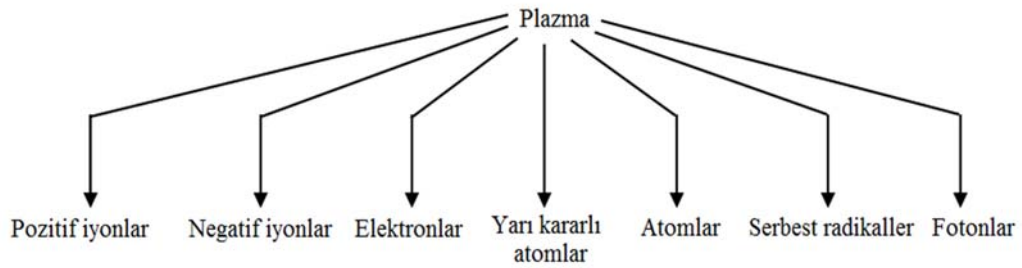
### **2.11. Maddenin Dördüncü Hali "Plazma"**

Plazma araştırmalarına temel olan çalışmalar ilk olarak 1700'lü yıllarda Benjamin Franklin'in uçurtma deneyiyle başlamıştır. Bu deneyde yüklü bulutlardaki statik elektriğin bir kısmı uçurtmanın ıslak ipliğinden aşağı inip ucuna bağlı olan anahtarla kıvılcıklar oluşturmuş ve böylece yıldırımın bir elektrik deşarjı olduğu görülmüştür. 1879 yılında İngiliz fizikçi Sir William Crookes kendi adını verdiği kısmen gazı boşaltılmış ve her iki ucuna birer metal elektrot eklenmiş farklı biçimlerdeki cam silindiri yani "Crookes tüpü" geliştirmiştir. Cam tüp içindeki elektrotlara yüksek voltaj uygulandığında elektronların katottan anoda doğru düz hatta hareket etmeye başlaması ve tüp içinde oluşan katot ışınması plazmanın ilk olarak keşfini sağlamış ve "maddenin 4. hali" olarak belirtilmişse de "Plazma" terim olarak ilk kez 1929 yılında Amerikalı kimyacı ve fizikçi Irving Langmuir tarafından kullanılmıştır.<sup>233</sup>

Fizik ve kimyada "plazma" iyonize olmuş gaz anlamına gelmektedir. Gazın iyonizasyonu: atom veya molekülden son bir elektronun kopması ve atom veya molekülün pozitif yüklü iyon haline dönüşmesidir. Herhangi bir gaza yüksek enerji verildiğinde gaz partikülleri birbirleriyle çarpışmaya başlar ve gaz iyonize olur. Plazma durumunda maddenin atomları parçalanmıştır ve sürekli hareket halinde olan pozitif yüklü iyonların, elektronların ve elektrik yükü bakımından nötr olan

parçacıkların oluşturduğu bir sistem haline gelmiştir. Böylesi bir topluluktaki eksi ve artı yüklerin eşit olma haline plazma denir. Bu nedenle plazma; bütünüyle elektriksel olarak nötrdür. Ancak serbest elektriksel yükler (elektron ve iyonlar) plazmayı elektriksel olarak iletken yapar.

Plazma içinde elektronlar ve iyonlardan başka fotonlar, uyarılmış atomlar veya moleküller, radikaller, metastabil atomlar, nötral atom veya moleküller de vardır (Bkz. Şekil 5).<sup>3</sup>



Şekil 5: Plazmanın içerdiği kimyasal türler

Evrenin %99'u plazma halindedir. Yıldızlar, yıldırımlar ve auralar evrende görebileceğimiz plazmalara örnektir. Günlük yaşantımızda neon reklam ışıkları, bilgisayar, cep telefonu ve plazma ekranlar plazmanın yaydığı UV ışığı kullanan tipik örneklerdir. Plazma elektronik, sanayi, havacılık, tıp ve biyomedikal alanında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Plazmalar; gaz atom veya moleküllerinin iyonlaşma derecesine göre tam iyonize veya yarı iyonize plazmalar, plazma deşarjının oluşturulduğu basınca göre düşük, atmosferik ve yüksek basınçlı plazmalar ve oluşan plazmanın sıcaklığına göre soğuk ya da sıcak plazma olarak sınıflandırılabilir.<sup>3</sup>

Laboratuvar koşullarında farklı tekniklerle amacına uygun plazma üretimi mümkündür. Laboratuvarda üretilen plazmalar genel olarak “gaz deşarjları” olarak bilinmektedir. Plazmayı üretebilmek için birbirine paralel ya da bir elektrot diğerine dik olarak konumlanmış iki elektrotta ihtiyaç vardır. Bununla birlikte elektrotun biri insan vücudu veya plazmayla muamele edilecek malzeme olabilmektedir. Elektrotlara uygulanacak enerji kaynağı (örneğin; ısıtma, doğru akım veya alternatif elektriksel

akım, radyofrekans dalgaları, mikrodalga), ortam basıncı (örneğin; düşük, atmosferik ve yüksek basınçlı) ve plazmayı oluşturacak gaz (örneğin; hava, argon, helyum, oksijen) plazmanın türünü belirlemektedir.<sup>233</sup>

Biyomedikal ve tıp alanında farklı tipte plazmalar kullanılmakta ise de canlı dokularda uygulama imkânı sunan ABSP'lerin son yıllarda kullanımları giderek yaygınlaşmaktadır.

### *2.11.1. Atmosferik basınçlı soğuk plazmalar*

ABSP'ler atmosfer basıncında üretilen soğuk plazmalardır. ABSP'ler farklı yollarda üretilebilse de ABSP üretiminde temel prensip genellikle aynıdır. Yüksek enerji verilen elektronların hızlanması sonucu gaz moleküllerinin iyonizasyonu sağlanmakta böylece bir elektrik veya manyetik alan oluşturulmaktadır. Oldukça ağırlaşmış nötral atomlar ile elektronların çarpışması sonucu atomların iyonizasyonu, uyarımı ve ayrışması gerçekleşir. ABSP'ler temel olarak korona deşarjı, dielektrik bariyer deşarjı (DBD) veya plazma jetleri ile üretilebilmektedir. Korona deşarjı enerji verilen sivri veya tel elektrotun ucunda oluşan yüksek yoğunluklu elektrik alanının elektrotun yakınındaki hava veya gazı iyonlaştırarak zayıf bir plazma oluşturması prensibine dayanır. DBD'de yöntem, korona deşarjına benzemekle birlikte birbirine paralel iki metal plaka elektrottan en az biri dielektrik bir materyal ile kaplanarak plazma bu iki elektrot arasında oluşturulmaktadır. Plazma jetlerinde ise bir reaktör içinde üretilen plazmanın açık bir boşluktan dışarı atılması söz konusudur.<sup>233</sup>

ABSP ile üretilen plazmanın soğuk olması onları canlı dokulara uygulanabilir kılmaktadır. Bu da ABSP'lere tıp ve diş hekimliğinde kullanım alanı oluşturmaktadır.

Tıp ve diş hekimliğinde plazma jetleri sayesinde canlı dokudan uzakta üretilen plazma reaktif türleri ve uyarılmış fotonları gaz akımıyla dışarı üfürülerek indirekt plazma uygulaması yapılabildiği gibi korona deşarjı ve DBD sayesinde canlı derisi/dokusunun doğrudan bir elektrot gibi işlev gördüğü ve plazma oluşumuna katıldığı direkt plazma uygulaması da yapılabilmektedir.<sup>3</sup>

ABSP'ler plazma kimyasının sunduğu yüksek enerji etkinliği ve seçiciliği sayesinde çeşitli alanlarda kullanılabilen, içerdiği bu kimyasal kokteyl ile tıp, dış hekimliği ve biyomedikal alanda sterilizasyon, hücre-doku biyostimülasyonu, yüzey modifikasyonu ve aktivasyonu etkinliklerini gerçekleştirebilmektedir.

#### *ABSP'lerin Etki Mekanizmaları*

Plazma içindeki elektronlar iyonizasyon, uyarma, ayrışma ve diğer kimyasal süreçleri tetiklemektedir. İyonlar yüklü ağır partiküllerdir ve yüksek enerjileri sayesinde plazma kimyasının aktifleşmesini sağlarlar. Örneğin plazma havanın iyonizasyonunu sağladığında azot iyonu ( $N_2^+$ ), suyun iyonizasyonunu sağladığında ise hidronyum ( $H_3O^+$ ) üretimine neden olmakta, oluşan bu pozitif iyonlar da ortamın asitleşmesine neden olmaktadır. Hem elektron hem de pozitif ve negatif iyonların katkısıyla güçlü reaktif oksidanların ve hidroksil radikalının etkin üretimi sağlanarak biyomateryallerin oksidasyonu ve plazmanın sterilizasyon etkinliği gerçekleştirilmiş olur. Plazma uygulamasında iyon bombardımanı mikroorganizmaların hücre membranındaki lipit tabakaya hasar vermekte ayrıca ozmotik basınç değişikliğine neden olup mekanik etkiyle mikroorganizma inaktivasyonu sağladığı düşünülmektedir.<sup>233</sup>

Elektrik alan, yüklü partiküllerin birlikte hareketini ve çökmesini sağlarken hücre membranının dış yüzeyinde biriken yükler nedeniyle oluşan elektrostatik kuvvetler de hücre membranının parçalanmasına (elektroporasyon) yol açmaktadır.<sup>233</sup>

Atom ve radikaller plazma kimyasında önemli role sahiptir. Atmosferik basınçlı hava plazmalarında oksijen atomu ve hidroksil radikallerinin etkin üretimi gerçekleşmekte böylece plazma ile oksidasyon işlemleri yapılabilmektedir. Nötraller'in çoğu (aktif atomlar, oksijen ve hidroksil radikalleri, siglet oksijen gibi uyarılmış türler) oldukça reaktif olsa da yaşam süreleri çok kısadır. Bu nedenle bu türlerin sterilizasyon etkisi sadece plazmanın içinde veya uygulanan yüzeyin hemen bitişiğinde sınırlı kalmaktadır. Diğer nötraller örneğin doymuş moleküllerden ozon ve pasif radikallerden nitrik oksit ile nitrojen dioksit fazla reaktif değildir ancak görece daha uzun ömre sahip olup plazmanın üretildiği alandan daha uzak bölgelerde etkili

olabilmektedir. ROT'lar ve reaktif nitrojen tür (RNT)'lerin hücre dış yapılarında güçlü oksidatif etkileri bulunmaktadır. Bakterilerde, plazma reaktif türlerin hedefindeki öncü hücresel öge hücre membranı olmakla birlikte bakterilere ait tüm hücresel yapılar plazmanın indüklediği hasardan etkilenebilmektedir.<sup>233</sup>

Plazma ile farklı dalga boylarında UV foton üretilmektedir. Bunlardan özellikle UV-C (100-280 nm) fotonlarının moleküllerin yapısını değiştirecek yeterli enerjisi olup, derin penetrasyon özelliği ile direkt sterilizasyon etkisi bulunmaktadır.<sup>233</sup>

ABSP'lerin tıp ve diş hekimliğinde kullanım alanlarını 3 ana başlık altında toplayabiliriz. Bunlar:

- ABSP ile yüzey biyomodifikasyonu yapılması
- ABSP ile sterilizasyon, dezenfeksiyon ve antisepsi sağlanması
- ABSP ile hücre-doku biyostimülasyonu yapılması

#### *ABSP ile Yüzey Biyomodifikasyonu Yapılması*

Plazma teknolojisi kullanılarak yüzey temizleme, pürüzlendirme, yüzey aktivasyonu, depozisyonu işlemleri yapılabilmektedir. Plazma uygulanan yüzeylerin yüzey özelliklerinin değişmesi (örneğin hidrofilitate artışı) yüklü partiküllerin yüzeyde yeni gruplar oluşturması ve mikro düzeyde oluşturduğu biyomodifikasyonlar sayesinde olmaktadır.<sup>234</sup>

Plazma destekli doku mühendisliği uygulamaları ilk kez medikal polimerlerin biyolojik özelliklerinin kontrol edilebilmesinde ve biyouyumluluk araştırmalarında kullanılmıştır. Tıpta kullanılan bütün polimer biyomateryallerden fizikokimyasal ve fizikomekanik özelliklerinin biyouyumluluğu sağlayacak biçimde birleşmesi arzulanır. Bütün polimerlerden istenen genel özellik ise toksik olmaması ve stabil olmasıdır.<sup>235</sup> Vücuda yerleştirilecek polimerlerde doku cevabını yönlendiren faktörler polimerin kimyasal bileşimi, yapısı ve morfolojisinden etkilenen yüzey özelliklerine bağlıdır. Polimer yüzeylerin hidrofilitesi ve ıslanabilirliği de yine biyouyumluluğun gereklerindedir. Hidrofilitate, biyomateryale plazma uygulanması sonrası yüzeyde geniş bir alanda çeşitli polar grupların oluşturulmasıyla sağlanır. Bu işlemler



proteinlerin yüzeyden emilmesi ve hücrenin yüzeye yapışmasını sağlamaktadır. Özetle plazma tedavisi medikal polimerlerin yüzey davranışının düzenlenmesinde (yüzeyin yapışkan hale gelmesi veya belirli biyolojik ajanlara karşı itici olması gibi) ve biyouyumluluğunun kontrolünde kullanılabilir. <sup>233</sup>

Kemik doku rejenerasyonunda kemik hücrelerinin proliferere olabileceği, üzerinde osteoid madde üretebileceği yüzey uyumluluğuna sahip bir çatıya ihtiyaç vardır. Soğuk plazma uygulanmış polimer çatıya (iskele) kemik hücrelerinin bağlanma ve proliferasyon gibi biyolojik aktivitelerinin düzenlenebileceğini gösterilmiştir. <sup>236</sup> Yıldırım ve ark.'nın <sup>237</sup> yaptığı çalışmada ABSP uygulamasının hidrofobik poli-e-kaprolakton yüzeyin hidrofilik hale getirilmesi sağlanmış, yüzeye hücre adezyon proteinlerinin bağlanmasıyla materyalin hücre afinitesi artırılmış böylece hücre çoğalması, farklılaşması ve yeni doku oluşumu başarıyla gerçekleştirilebilmiştir.

ABSP uygulanmış implantların yüzey ıslanabilirliğinin artması ile osteoblastların implant yüzeyine daha iyi yayıldığı gösterilmiştir. <sup>238</sup> ABSP sayesinde implant yüzeyleri osseointegrasyonu arttıracak çeşitli protein ve mineraller ile kaplanabilmekte <sup>239, 240</sup> aynı zamanda implant yüzeylerine belirli bir süre antibakteriyel özellik kazandırılabilir. <sup>241</sup> Plazmanın implant yüzeyinde oluşturduğu yüzey bağlama enerjisi ve adezyon artışı ve aynı zamanda bakteriyel adezyonun önlenmesi gibi potansiyel etkileri sayesinde konak-implant ilişkisinin artırılması sağlanmaktadır. <sup>242</sup>

Konservatif tedavide yapılan in vitro çalışmalar ile dentin yüzeylerine asitleme sonrası 30 s plazma uygulaması ile dentin yüzeylerinde artan karbonil gruplarıyla rezin kompozitin periferik dentine bağlanma gücü artış göstermiştir. <sup>243</sup> Dentin yüzeyine uygulanan ABSP'nin, dental adezivlerin dentin ile kimyasal etkileşimini arttırdığını, dentin bağlayıcı ajanların dentine ve kompozit restorasyona bağlantısını güçlendirdiği gösterilmiştir. <sup>244, 245</sup>

#### *ABSP ile sterilizasyon, dezenfeksiyon ve antisepsi sağlanması*

ABSP'ler içeriğinde bakterisit özellikte birçok öge taşır. Soğuk plazmalar farklı yoğunluk ve dalga boyunda UV fotonların, ROT'ların ve RNT'lerin, uyarılmış

atom ve moleküllerin etkin bir kaynağıdır. Bu türler bakteri, virüs ve diğer mikroorganizmaların ısı artışı yapmadan inaktive edilmesine veya tamamen atomlarına parçalanmasına neden olur.<sup>246</sup> ABSP'lerin ısı etkisi oluşturmadan sağladığı sterilizasyon ve dezenfeksiyon etkisi özellikle ısıya duyarlı malzemelerin sterilizasyonunda zararlı atık oluşturan etilen oksit sterilizasyonuna alternatif olarak kullanılabilir. Daha önemlisi canlı yüzeylerde seçici etki göstererek sağladığı antisepsi, mikrobiyal birçok hastalığın tedavisinden yara dezenfeksiyonuna kadar çok geniş bir yelpazede kullanım imkânı sunmaktadır.<sup>233</sup>

ABSP'lerin en dikkat çekici özelliği ise sadece planktonik bakterilere değil biyofilm içerisindeki korunaklı ve dirençli bakteri ve mantarlar üzerinde antimikrobiyal etkinlik göstermesidir.<sup>247-249</sup> ABSP ile biyofilmin üç boyutlu ve boşluklu yapısı içinde derin katmanlara kadar kolaylıkla difüze olan reaktif ürünler sayesinde hem biyofilmin extrasellüler polimerik yapısı çözülmekte hem de yapışık ve dirençli mikroorganizmalar öldürülmektedir.<sup>250, 251</sup> Yapılan in-vitro çalışmalar ile çürük diş kavitesinin ve kök kanallarının dezenfeksiyonunda ABSP kullanımının total bakteriyel yükü azaltmada etkin olduğu gösterilmiştir.<sup>252-254</sup> Başka bir in-vitro çalışmada ise dentin yüzeyinde oluşturulan *Streptococcus mutans* biyofilmi üzerine uygulanan ABSP'nin hem dentin yüzeyinde dekontaminasyon sağladığı hem de yüzeyel dentin katmanında pürüzsüz düz bir yüzey oluşturarak yeniden biyofilm yapışmasını önleyecek yüzey modifikasyonu gerçekleştirdiği bildirilmiştir.<sup>255</sup> Ayrıca Koban ve ark.'nın<sup>256</sup> dental biyofilme ABSP ve klorheksidini karşılaştırmalı kullandıkları çalışmada *Streptococcus mutans* biyofilmi üzerine plazmanın daha etkin olduğunu bildirmişlerdir. Rupp ve ark.<sup>257</sup> ise titanyum diskleri üzerine ABSP ve abrasif olmayan hava/su spreyini birlikte kullandıkları ex vivo çalışmada titanyum mikroyüzeylerinden biyofilmin etkin bir şekilde kaldırıldığını göstermişler, ABSP'lerin periimplantitis tedavisinde kullanılabilirliğini belirtmişlerdir.

İnsan ve hayvan dokularında en az zararla veya hiç zarar vermeden antisepsi sağlanması büyük önem arz eder. Özellikle açık yaralar, ülser ve yanık tedavisinde kullanılan kimyasal maddeler dokularda tahribata yol açmaktadır. ABSP'ler özellikle direkt tedavi yöntemleri uygulandığında canlı dokularda antisepsi sağlanmasında başarılı olduğu görülmektedir. Isbary ve ark.'nın<sup>258</sup> kronik enfekte yaralarda her gün ABSP uygulamasının, plazma uygulanmamış kontrol grubuna göre yüksek oranda

bakteriyel yükü azalttığı (%34), tedavi esnasında ve sonrasında herhangi bir yan etki oluşmadığı ve hastalar tarafından iyi tolere edildiğini bildirmiştir. Fetykov ve ark.'nın<sup>259</sup> diyabetik ayak sendromlu 48 hasta üzerinde yaptığı olgu-kontrol çalışmasında ABSP uygulamasının 5 gün içinde yara iyileşmesini hızlandırdığı ve ağrıyı azalttığını gösterilmiştir. Atopik dermatitte ve pruritik hastalıklarda da ABSP'ler başarıyla kullanılmaktadır.<sup>260, 261</sup>

#### *ABSP ile hücre-doku biyostimülasyonu yapılması*

Yarada enfeksiyon varlığı, mikroorganizmalar, yaranın kan desteği, beslenmesi, pH değişimleri ve travma gibi lokal etmenlerin doku tamir sürecinin hızı ve kalitesi üzerine etkisi bulunduğu bilinmektedir.<sup>262, 263</sup> Klinikte, yara iyileşme sürecini kısaltmak ve ideal yeni doku oluşumunu sağlamak için temel yaklaşım, süreçte rolü olan enflamatuvar hücreleri, trombositleri, mediyatörleri, kollajen sentezini, anjiyogenezi ve hücre dışı matriks gibi etmenleri etkilemek ve iyileşmenin sorunsuz gerçekleşeceği aseptik koşulların oluşturulmasını sağlamaktır.<sup>264</sup>

Laboratuvar ve klinik çalışmalar ile düşük doz ABSP uygulamasının insan ve hayvan hücrelerinde zarar oluşturmaksızın, canlı yüzeylerde dezenfeksiyon sağladığı<sup>249, 258, 265</sup> ve yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri bulunduğu gösterilmiştir.<sup>259, 265, 266</sup> Bu etkiler; yara yüzeyinde etkili biçimde debridman yapması, yapışık bakteri ve biyofilm üzerinde antimikrobiyal aktivitesi, dokudaki minimal ısı artışının sirkülasyonu arttırıp, anjiyogenezisi tetiklemesi ve lokal endojen radikallerin immün sistemi stimüle etmesi olarak özetlenebilir.<sup>256</sup> ROT'lar, MMP'leri direkt uyararak heparin bağlı epidermal büyüme faktörü salınımını ayrıca mitojen aktive protein kinaz yolağının aktivasyonu ile trombosit türevli büyüme faktörü üretimini sağlayarak yara iyileşmesini hızlandırmakta<sup>267</sup> ve nitrik oksit konsantrasyonu artışı ile rejenerasyon sağlanmaktadır.<sup>261</sup> ABSP'ler fibroblast ve keratinositlerin stimülasyonu, anjiyogenezis, kontraksiyon ve koagülasyon sağlayarak yara iyileşmesine katkıda bulunmaktadır.<sup>265</sup>

Ekzojenik nitrik oksit üreten ABSP fibroblast proliferasyonu sağlamakta ve yara iyileşmesini hızlandırmaktadır.<sup>268</sup> Nitrik oksitin yara iyileşmesinde immün cevabı

düzenlediği, fagositozu tetiklediği, keratinosit proliferasyonu ve kollajen sentezinin düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir.<sup>269</sup> Ayrıca ABSP yara üzerindeki mikroorganizmaların inaktivasyonu ile de iyileşmeye katkı sunmaktadır.

Yapılan hayvan çalışmaları ile ABSP uygulamasının yara üzerindeki mikrobiyal yükü azalttığı, enflamasyonun geç fazını hızlandırdığı, epitelizasyonu ve yara büzülmesini arttırarak daha erken yara kapanmasını sağladığı histolojik ve histomorfometrik olarak gösterilmiştir.<sup>248, 270</sup>

ABSP ile yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda plazmaların kaynak tipi, operasyon sıklığı, basıncı, gücü, kullanılan gazın türü ve karışımı oldukça farklılık göstermektedir. Bu nedenle meta analiz çalışmalarının yapılması mümkün olmamaktadır. Diş hekimliğinde ABSP'ler ile ilgili sınırlı sayıda klinik çalışma mevcuttur. Diş hekimliğinde yapılan çalışmaların büyük kısmı in vitro çalışmalar olup tıp alanında yapılan hayvan ve klinik çalışmaların ışığında ABSP'lerin etkinliği değerlendirilmeye çalışılmaktadır.

CPT tüm periodontal tedavilerin en önemli ve ilk basamağı olmakla birlikte klinik uygulamada bazı durumlarda tek başına yetersiz kalmakta ve ilave tedavilerle desteklenmesi gerekmektedir. Çalışmamızda CPT'ye ilave olarak periodontal cep içerisine ABSP uygulamasının hastaların klinik periodontal parametreleri, DOS'undaki biyokimyasal belirteçleri ve subgingival plak örnekleri içindeki mikroorganizma profili üzerine etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Araştırmamız için İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi etik kurulundan 16.09.2015 tarih,1 versiyon numarası ile etik kurul onayı (EK-1) alındı. Ardından T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan Tıbbi Cihaz Klinik Araştırması uygunluk onayı alındı (Sayı: 71146310 [2015-AC-CE-00129]) (EK-2). Çalışmamız Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na 3001 programı kapsamında proje önerisi olarak sunuldu. TÜBİTAK proje desteğini alan çalışmamızın proje başlangıç tarihi 1.7.2016 ve proje numarası: 315S274' tür.

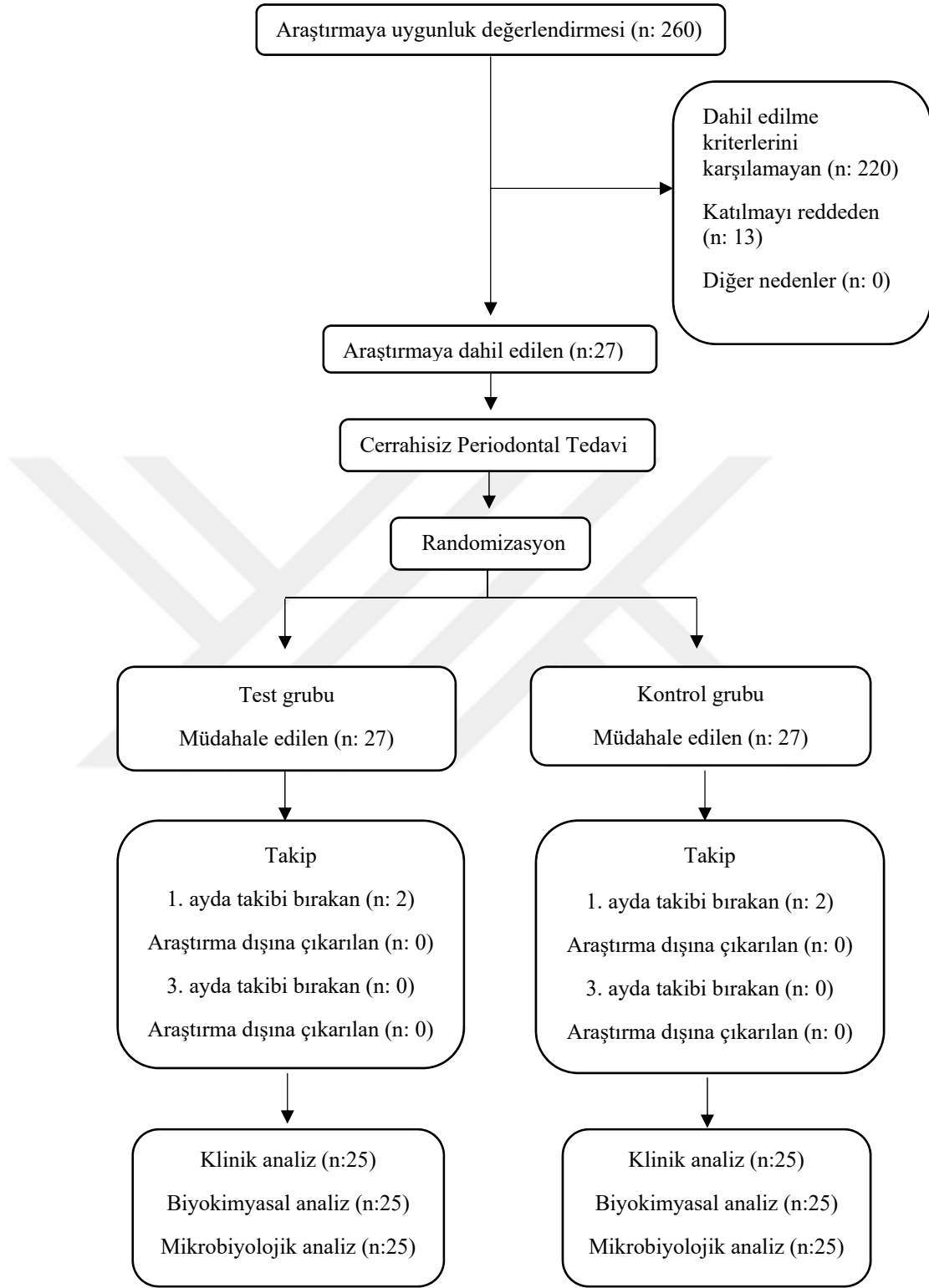
#### **3.1. Araştırmanın Tasarımı ve Yöntemi**

Araştırmamıza 2016 Haziran – 2016 Eylül tarihleri arasında İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na periodontal muayene amacıyla başvurmuş, klinik ve radyolojik olarak “kronik periodontitis” teşhisi konulmuş 25-70 yaş arasındaki bireylerin çalışmaya dahil edilme kriterlerine uygunluğu açısından anamnezi alındı ve periodontal muayenesi yapıldı. Çalışma randomize kontrollü, split-mouth ve çift kör olarak tasarlandı. Çalışmaya dahil edilen tüm bireylere çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında bilgi verildikten sonra imzalı gönüllü oluru (EK-3) alındı. Çalışmamız 26-48 yaş arası toplam 25 bireyle tamamlandı (Bkz. Şekil 6).

G\*Power 3.1\* yazılım programı ile yapılan güç analizi sonucunda, 1 mm'lik KAS'da ve  $\alpha=0.05$  anlamlılık seviyesinde değişim, 25 'er kişiden oluşan örnekleme sayısının % 99 güç oluşturduğu tespit edilmiştir. Araştırmamızın akış şeması Şekil 6' de gösterilmiştir.

---

\* Franz Faul, Universität Kiel, Germany



**Şekil 6:** Araştırma akış şeması

### 3.1.1. Çalışmaya dahil edilme kriterleri

Çalışmaya dahil edilecek hastaların:

1. 25-70 yaş aralığında olması
2. Herhangi bir sistemik hastalığının bulunmaması ve ilaç kullanmaması
3. Sigara kullanmaması
4. Hamilelik ve emzirme döneminde olmaması
5. Son 6 ay içinde antibiyotik ve son 3 ay içinde anti-enflamatuvar ilaç kullanmış olmaması
6. Son altı ay içerisinde periodontal tedavi görmüş olmaması
7. DOS alınacak diş ile bu dişe komşu dişlerde kuron-köprü restorasyonu bulunmaması
8. Her yarım çenede en az 3 diş bulunması ve simetrik olarak en az iki yarım çenede (mandibulada veya maxillada) periodontal cep derinliği  $\geq 5$  mm olan en az 2'şer adet dişinin bulunması esas alındı.

### 3.2. Periodontal Klinik Değerlendirmeler

Hastalardan gönüllü olur bilgilendirilmiş onam formu alındıktan sonra çalışma kapsamına alınan tüm bireylerin radyolojik muayeneleri ile eşzamanlı olarak klinik periodontal muayeneleri yapıldı. Klinik muayenede bütün doğal dişlerin periodontal durumunu saptamak amacıyla SCD ve KAS ölçümleri, her bir dişin 6 yüzeyinden (meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midpalatinal ve distopalatinal) yapılarak skorlar kaydedildi. Pİ, Gİ ve DKİ her bir dişin 4 yüzeyinden (meziobukkal, midbukkal, distobukkal ve midpalatinal) ölçülerek skorlar kaydedildi. Bu ölçümlerde milimetrik olarak kalibre edilmiş Williams periodontal sondu<sup>†</sup> kullanıldı. Çalışmada klinik ölçümler farklı bir araştırmacı (Dt. Levent Savran) tarafından yapıldı. Bütün

---

<sup>†</sup> Hu-Friedy, ABD

linik parametrelerin ölçümü başlangıç, 1. ay ve 3. ayda tek bir kişi tarafından gerçekleştirildi. İndeks skorları aşağıdaki şekilde değerlendirildi.

### 3.2.1. Sondalama cep derinliği

Williams periodontal sondu yardımıyla diş eti kenarı ile sulkus/cep tabanı arası mesafe, vestibül/bukkal ve lingual/palatinal, mezyal, orta ve distal olmak üzere, dişin altı noktasından ölçüldü. Ölçüm esnasında sondun, dişin uzun aksına paralel olmasına ve aşırı kuvvet uygulanmamasına dikkat edildi. Her bir dişin SCD değerleri toplanıp 6'ya bölünerek diş başına SCD miktarı hesaplandı. Test ve kontrol grubu için diş başına SCD değerleri toplanıp diş sayısına bölünerek her bölgeye ait tüm ağız ortalama SCD miktarı hesaplandı. Test ve kontrol bölgesinde periodontal cep bulunan dişlerde, KYD yapılan cep başına SCD değerleri toplanıp toplam cep sayısına bölünerek tedavi edilen dişlere ait SCD miktarı hesaplandı.

### 3.2.2. Klinik ataşman seviyesi

Williams periodontal sondu yardımıyla mine sement sınırı ile SCD arasındaki mesafe vestibül/bukkal ve lingual/palatinal, mezyal, orta ve distal olmak üzere, dişin altı noktasından ölçüldü. Her bir dişin KAS değerleri toplanıp 6'ya bölünerek diş başına KAS miktarı hesaplandı. Test ve kontrol grubu için diş başına KAS değerleri toplanıp diş sayısına bölünerek her bölgeye ait tüm ağız ortalama KAS miktarı hesaplandı. Test ve kontrol bölgesinde periodontal cep bulunan dişlerde, KYD yapılan cep başına KAS değerleri toplanıp toplam cep sayısına bölünerek tedavi edilen dişlere ait KAS miktarı hesaplandı.

### 3.2.3. Plak indeksi

Çalışmamızda Silness ve Loe (1964) plak indeksi<sup>271</sup> kullanıldı. Pİ ölçümü için değerler her dişin meziobukkal/vestibül, midbukkal/ vestibül, distobukkal/ vestibül, midpalatinal/lingual olmak üzere dört yüzeyinden elde edildi. Her bir dişin Pİ değerleri toplanıp 4'e bölünerek diş başına Pİ miktarı hesaplandı. Test ve kontrol grubundaki Pİ



değerleri toplanıp diş sayısına bölünerek her bölgeye ait tüm ağız ortalama Pİ miktarı hesaplandı. Test ve kontrol bölgesinde KYD yapılan dişler için diş başına Pİ değerleri toplanıp diş sayısına bölünerek tedavi edilen dişlere ait Pİ miktarı hesaplandı.

Skorlama şu şekilde yapılmıştır:

0: Diş yüzeyinin diş eti bölgesinde hiç bakteri plağı yok.

1: Göz ile dişin yüzeyinde bakteri plağı görülmemekte fakat sondalama işleminden sonra sondun ucunda bakteri plağı izlenmektedir.

2: Diş eti bölgesi ince ve orta düzeyde bakteri plağı ile kaplıdır ve bu birikinti göz ile seçilebilmektedir.

3: Fazla miktarda yumuşak birikinti vardır. Bunun kalınlığı diş eti oluşunu tamamen doldurmuştur ve interdental bölge yumuşak birikinti ile doludur.

#### 3.2.4. *Gingival indeks*

Çalışmamızda Loe ve Silness (1963) gingival indeksi<sup>272</sup> kullanıldı. Gİ ölçümü için değerler her dişin meziobukkal/vestibül, midbukkal/ vestibül, distobukkal/ vestibül, midpalatinal/lingual olmak üzere dört yüzeyinden elde edildi. Her bir dişin Gİ değerleri toplanıp 4'e bölünerek diş başına Gİ miktarı hesaplandı. Test ve kontrol grubundaki Gİ değerleri toplanıp diş sayısına bölünerek her bölgeye ait tüm ağız ortalama Gİ miktarı hesaplandı. Test ve kontrol bölgesinde KYD yapılan dişler için diş başına Gİ değerleri toplanıp diş sayısına bölünerek tedavi edilen dişlere ait Gİ miktarı hesaplandı.

Skorlama şu şekilde yapılmıştır:

0: Sağlıklı diş eti.

1: Hafif enflamasyon, hafif renk değişikliği ve ödem var ama sondalama işleminden sonra kanama yok.

2: Orta dereceli enflamasyon, ödem, kırmızılık ve parlaklık, sondalamada kanama var.

3: Şiddetli enflamasyon ve kızarıklık, ödem, ülserasyon ve spontan kanamaya eğilim var.

### 3.2.5. Diş eti kanama indeksi

Bütün dişlerin vestibül, lingual, mezyal ve distal yüzeyleri çevre yumuşak dokusundaki enflamasyon derecesini belirlemek amacıyla Ainamo'nun diş eti kanama indeksi<sup>273</sup> kullanıldı. DKİ'de diş eti oluşunun hafifçe sondalanmasından sonra 10 s içerisinde kanama olan bölgeler pozitif (+), kanama olmayan yerler negatif (-) olarak skorlandı. DKİ ölçümü için değerler her dişin meziobukkal/vestibül, midbukkal/vestibül, distobukkal/ vestibül, midpalatinal/lingual olmak üzere dört yüzeyinden elde edildi. Test ve kontrol grubundaki her bir dişte pozitif (+) skora alan bölgelerin sayısı toplam incelenen bölge sayısına bölünüp sonuç 100 ile çarpılarak her bölgeye ait tüm ağız sondalamada kanama yüzdesi (SKY) belirlendi. Test ve kontrol bölgesinde KYD yapılan dişler için diş başına SKY değerleri toplamı diş sayısına bölünerek tedavi edilen dişlere ait SKY hesaplandı.

### 3.3. Periodontal Tedavi Protokolü

Klinik periodontal muayene sonrasında çalışmaya dahil edilmeye uygun görülen hastalara DOS'un ve plak örneklerinin nasıl alınacağı, DYT'nin nasıl yapılacağı ve ABSP uygulamasının nasıl olacağı yazılı, sözlü ve görsel olarak anlatıldı. İmzalı gönüllü oluru alınan hastaların klinik ölçümleri kör bir araştırmacı (Dt. Levent Savran) tarafından yapıldı. Klinik olarak Pİ, Gİ, SCD, KAS ve DKİ kaydedildi. Hastalara DOS ve plak örneklerinin alınması, DYT işleminin yapılması için ikinci seans randevusu verildi. İkinci seansta hastaların mevcut periodontal durumlarını etkilememek amacıyla, DOS örneklerinin alımı öncesi hastalara herhangi bir periodontal işlemde bulunulmadı ve DOS toplamak için özellikle günün belirli saatleri tercih edildi. İkinci seansta aynı çene sağ ve sol olmak üzere ikiye bölünerek her yarım çenede bulunan en derin 2 cepten sırasıyla kağıt striplerle<sup>‡</sup> DOS ve gracey

<sup>‡</sup> Periopaper®, OraFlow Inc., ABD

küretlerle<sup>§</sup> plak örnekleri alınıp, DYT ve ağız hijyen motivasyonu yapıldı (Bkz. Şekil 8).

### 3.3.1. DOS örneklerinin elde edilmesi

DOS örnekleri standart boyutlarda hazırlanmış kağıt stripler yardımıyla toplandı. Bölgeler işlem öncesi steril tamponlarla tükürükten izole edilerek supragingival plak uzaklaştırıldı. Örneklenen diş yüzeyleri hafifçe hava sıkılıp kurutularak kağıt strip sulkusta 1-2 mm kadar ilerletilip 30 s bekletildi. Kan ile kontamine olan stripler değerlendirilmeye alınmadı. Elde edilen stripler elektronik sıvı hacmi ölçüm cihazında<sup>\*\*</sup> okutulduktan sonra sağ bölgeden elde edilen 2 adet strip 1.5 ml'lik polipropilen santrifüj tüp içerisine konuldu, aynı şekilde sol bölgeden elde edilen 2 adet strip başka bir polipropilen santrifüj tüp içerisine tüpe konularak her bölgedeki örnekler kendi içinde havuzlandı. Örnekler analiz gününe kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Örnekleme işlemi periodontal tedavi sonrası 1. ve 3. aylarda tekrarlandı.

### 3.3.2. Subgingival plak örneklerinin elde edilmesi

DOS toplanan ceplerden daha sonra subgingival mikrobiyal örnek alındı. Örnekleme öncesi ilgili alan çevresine pamuk tamponlar yerleştirilip, supragingival plak steril bir kretuarla diş eti irrite edilmeden uzaklaştırıldı. Örnekleme alanı hava ile hafifçe kurutularak steril bir gracey küret yardımıyla subgingival plak örnekleri alındı ve içerisinde 500 µl fosfat tampon<sup>††</sup> bulunan 1.5 ml'lik polipropilen santrifüj tüplerine aktarıldı. Sağ ve sol bölgeden elde edilen plak örnekleri ayrı santrifüj tüplerine konuldu, aynı bölgeden elde edilen örnekler tek bir santrifüj tüp içinde havuzlandı. Tüpler içindeki örnekler analiz gününe kadar -80°C'de saklandı. Örnekleme işlemi periodontal tedavi sonrası 1. ve 3. aylarda tekrarlandı.

---

<sup>§</sup> Hu-Friedy, ABD

<sup>\*\*</sup> OraFlow Inc., ABD

<sup>††</sup> PBS, pH 7.4, Thermo Fisher Scientific, ABD

### 3.3.3. Cerrahisiz periodontal tedavinin yapılması

DYT, kretuvarlar<sup>‡‡</sup> ve ultrasonik aletler<sup>§§</sup> yardımıyla supragingival ve subgingival olarak yapıldı. Polisaj işleminde kauçuk fırçalar kullanıldı. Aynı seansta hastalara fırçalama tekniği, diş ipi ve ara yüz fırçası kullanımını detaylı olarak anlatılarak ağız hijyen motivasyonu yapıldı ve bir hafta sonrasına KYD işlemi için randevu verildi (Bkz. Şekil 8).

Üçüncü seansta gerekli olduğu durumda yeterli lokal anestezi<sup>\*\*\*</sup> sağlandıktan sonra tüm ağız KYD işlemi ve serum fizyolojik irrigasyonu yapıldı. KYD işlemi 1-2/3-4/5-6/7-8/11-12/13-14 numaralı gracey küretler yardımıyla, her diş için pürüzsüz bir yüzey hissedilene kadar yapıldı. Subgingival serum fizyolojik uygulamasında künt uçlu 10 cc'lik enjektör kullanıldı.

### 3.3.4. Araştırma gruplarının oluşturulması

KYD işleminden sonra hastaların çeneleri split-mouth tedavi protokolü çerçevesinde sağ ve sol iki bölüme ayrıldı ve hangi çeneye ABSP uygulanacağı <http://www.randomization.com> sitesindeki randomizasyon programı kullanılarak belirlendi (Bkz. Şekil 7). Test grubuna KYD ve serum fizyolojik irrigasyonuna ilave cep içi dekontaminasyon yapmak için ABSP cam uygulama ucu (PS00, PS02, PS04) cep içerisine direnç hissedilene kadar yerleştirildi ve diş eti oluğu içinde gezdirilmek suretiyle, üreticinin tavsiyeleri doğrultusunda her bir dişte 2.5 dakika (dk.) ve 4-5 güç seviyesinde ABSP<sup>†††</sup> (güç maks.5 W, frekans 420 Hz – 1220 Hz, sinyal aralığı 5 µs – 10 µs) uygulandı (Resim 6). Kontrol grubuna hastanın körlüğünü sağlamak amacıyla, pseudo olarak, cam uygulama ucu cep içine yerleştirildi ancak cihaz çalıştırılmadı.

Çalışmamızda 3. seansta hastaların CPT'si tamamlandı. Bunu takiben 1. ve 3. aylarda DOS ve plak örnekleri alınıp, klinik parametreleri tekrar kaydedi. Çalışmayı

---

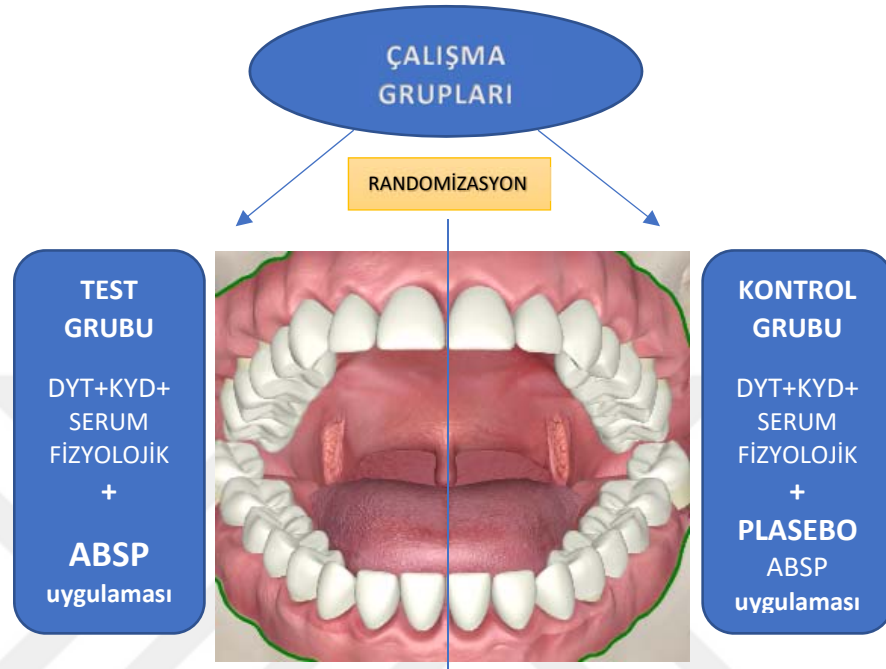
‡‡ Hu-Friedy, ABD

§§ EMS minipiezon, Fransa

\*\*\* Maxicaine forte, VEM ILAC, Türkiye

††† Plazma One, plazma MEDICAL SYSTEMS, GmbH, Almanya

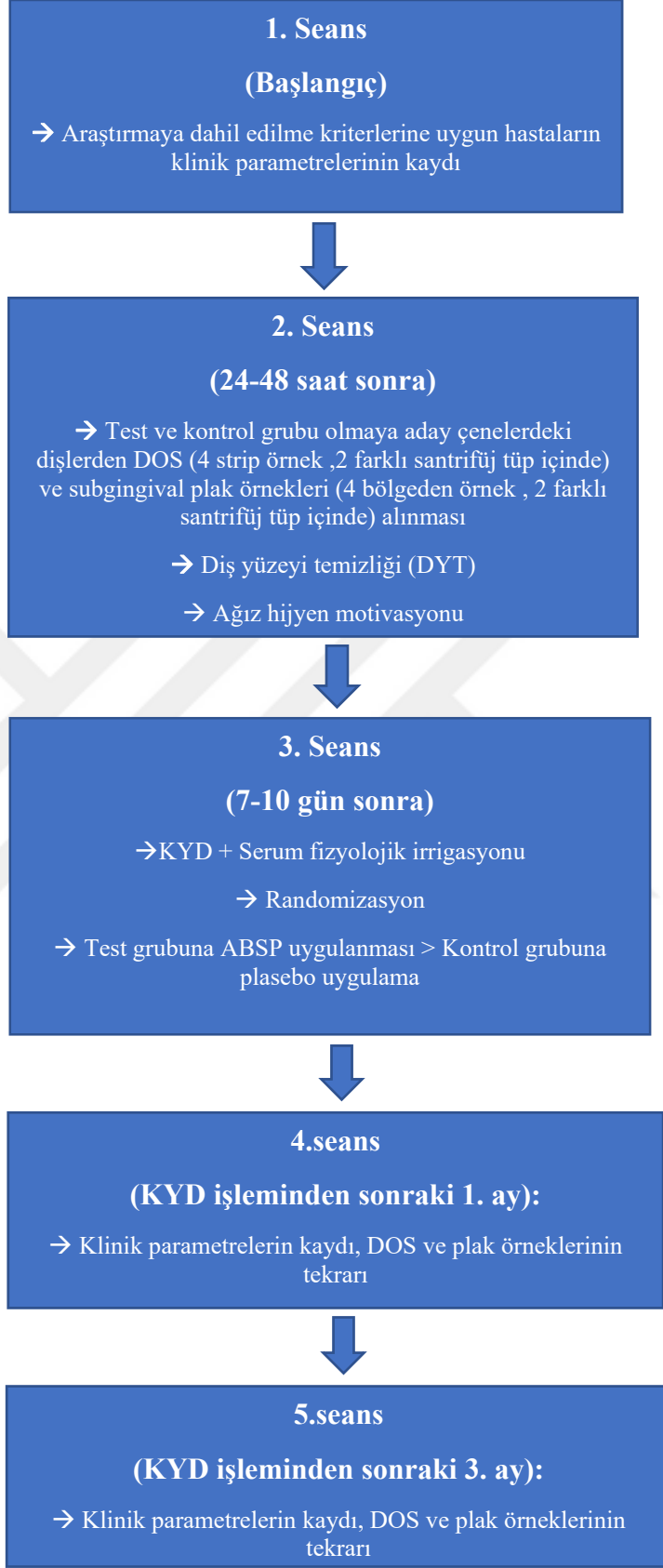
körlemek amacıyla tedaviyi yapan ve ölçümleri yapan klinisyenler farklı iki bireyden oluşturuldu. CPT protokol akışı Şekil 8’te özetlenmiştir.



**Şekil 7:** Çalışma gruplarının şematik gösterimi. DYT: Diş yüzeyi temizliği, KYD: Kök yüzeyi düzleştirme, ABSP: Atmosferik basınçlı soğuk plazma



**Resim 6:** Periodontal cep içerisine ABSP uygulaması



**Şekil 8:** Çalışma protokolü özet şeması

### 3.4. *Biyokimyasal Analizlerin Yapılması*

DOS IL-1 $\beta$ , IL-10, MMP-8 ve VEGF düzeylerinin ölçümü İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Hücre Kültürü Araştırma Laboratuvarında IL-1 $\beta$ <sup>†††</sup>, IL-10<sup>†††</sup>, VEGF<sup>†††</sup> ve MMP-8<sup>§§§</sup> için geliştirilmiş ticari kitler kullanılarak ELISA yöntemiyle gerçekleştirildi. TAOK ve TOK ölçümü ise Erel<sup>154, 160</sup> tarafından geliştirilen enzimatik yöntemle, ticari kitler<sup>\*\*\*\*</sup> kullanılarak gerçekleştirildi.

#### 3.4.1. *DOS örneklerinin biyokimyasal örnelemeye hazırlanması*

DOS örneklerinin analizi için donmuş filtre kağıtlarını içeren santrifüj tüpleri en az 20 dk. oda sıcaklığında bekletildikten sonra her bir ependorf tüpüne 700  $\mu$ l fosfat buffer konularak 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. Filtre kağıtlarındaki DOS'un fosfat buffer'a geçişi sağlandıktan sonra santrifüj tüp 1 dk. boyunca vorteksenerek homojenizasyon sağlandı. Santrifüj tüpleri içerisindeki fosfat buffer ile sulandırılmış DOS örnekleri polipropilen uca sahip pipetör vasıtasıyla alınarak, her bir biyokimyasal mediyatör için üretici firmanın talimatlarına uygun olarak çalışıldı.

#### 3.4.2. *IL-1 $\beta$ miktarının belirlenmesi*

Deneye başlamadan önce tüm reaktifler ve örnekler oda ısısına getirildi (18-25°C). Kit içerisindeki stok standartları kit prosedürüne uygun olarak seri sulandırma yapılarak hazırlandı. 100  $\mu$ l'lik standartlar blank kuyucukları hariç uygun standart kuyucuklarına pipet yardımıyla eklendi. Blank kuyucuklarına 100  $\mu$ l fosfat tampon, örnek kuyucuklarına ise 100  $\mu$ l seyreltilmiş DOS örnekleri eklendi. Tüm kuyucuklara 50  $\mu$ l biyotin konjugat eklenerek plakların üzeri yapışkan şeffaf filmle kapatılarak, karanlıkta bir gece oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyondan sonra plakların içindeki sıvılar dökülüp otomatik yıkayıcıda<sup>††††</sup> yıkama solüsyonu ile altı kez yıkandı. Yıkama işleminden sonra hazırlanan

---

††† eBioscience, ABD

§§§ USCN, ABD

\*\*\*\* Rel Assay Diagnostics®, Türkiye

†††† Thermo Fisher Scientific, ABD

streptavidin-horseradish peroxidase (HRP) solüsyonundan 100 µl tüm kuyucuklara eklendi ve plağın üzeri kapatılarak 1 saat, oda sıcaklığında, karanlıkta otomatik mikropalak çalkalayıcı cihazında<sup>††††</sup> 400 revolutions per minute (dakikadaki döngü sayısı) (rpm)'de hafif sallanarak inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra yıkama solüsyonu ile altı kez yıkama yapıldı. Sonra tüm kuyucuklara 100 µl 1. yükseltme solüsyonu konuldu; plak üzeri kapatılarak 15 dk. oda sıcaklığında hafif sallanarak inkübasyona bırakıldı. Ardından tekrar altı kez yıkama yapıp her kuyucuğa 100 µl 1. yükseltme solüsyonu konuldu ve oda sıcaklığında, karanlıkta, 400 rpm'de hafif sallanarak 30 dk. inkübasyona bırakıldı ve bu süre sonunda tekrardan 6 kez yıkama yapıldı. Kuyucuklara 100 µl 3,3', 5,5'- tetrametilbenzidin (TMB) substrat solüsyonu eklenerek 10-20 dk. oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra kuyucuklardaki solüsyonların değişen tonlarda mavi renge dönüştüğü gözlemlendi. 100 µl reaksiyon durdurucu solüsyon eklenerek reaksiyon durduruldu ve kuyucuklardaki solüsyonun sarı renge dönüşümü gözlemlendi. Daha sonra plak, ELISA optik okuyucu cihazında<sup>††††</sup> 450 nm dalga boyunda okutularak örneklerin absorbans değerleri spektrofotometrik olarak belirlendi.

### 3.4.3. IL-10 miktarının belirlenmesi

IL-10 miktarının belirlenmesinde uygulanan prosedüre benzer şekilde 100 µl standart solüsyonu standart kuyucuklarına, 100 µl fosfat tampon blank kuyucuklarına ve 100 µl DOS örneği örnek kuyucuklarına pipetörle aktarıldı. Üzerlerine 50 µl biyotin konjugat eklenerek plakların üzeri yapışkan şeffaf filmle kapatıldıktan sonra 2 saat oda sıcaklığında, 400 rpm'de hafif sallanarak inkübasyona bırakıldı. Plaka altı kez yıkandıktan sonra 100 µl streptavidin-HRP solüsyonu eklendi ve üzeri kapatılarak 1 saat oda sıcaklığında, 400 rpm'de hafif sallanarak inkübasyona bırakıldı. Altı kez yıkamadan sonra 100 µl 1. yükseltme solüsyonu konulup 15 dk. oda sıcaklığında, 400 rpm'de hafif sallanarak inkübe edildi ve sonrasında altı kez yıkama yapıldı. 100 µl 2. yükseltme solüsyonu konulduktan sonra oda sıcaklığında, 400 rpm'de hafif sallanarak 30 dk. inkübasyona bırakıldı ve sonrasında altı kez yıkama yapıldı. Kuyucuklara 100 µl TMB substrat solüsyonu eklenerek 10-20 dk. oda sıcaklığında inkübasyona



bırakıldı. Son olarak 100 µl reaksiyon durdurucu solüsyon eklendi ve 450 nm dalga boyunda okutuldu.

#### *3.4.5. VEGF miktarının belirlenmesi*

Üretici firmanın talimatları doğrultusunda 100 µl standart solüsyonu standart kuyucuklarına, 100 µl fosfat tampon blank kuyucuklarına ve 100 µl seyreltilmiş DOS örneği örnek kuyucuklarına pipetörle aktarıldı. Üzerlerine 100 µl biyotin konjugat eklenerek plakların üzeri yapışkan şeffaf filmle kapatıldıktan sonra 1 saat oda sıcaklığında, 400 rpm'de hafif sallanarak inkübasyona bırakıldı. Plaka altı kez yıkandıktan sonra 100 µl streptavidin-HRP solüsyonu eklendi ve üzeri kapatılarak 1 saat oda sıcaklığında, 400 rpm'de hafif sallanarak inkübasyona bırakıldı. Altı kez yıkamadan sonra kuyucuklara 100 µl TMB substrat solüsyonu eklendi, üzeri kapatılarak 30 dk. oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Son olarak 100 µl reaksiyon durdurucu solüsyon eklendi ve 450 nm dalga boyunda okutuldu.

#### *3.4.6. MMP-8 miktarının belirlenmesi*

Standart, blank veya örnekten 100 µl kuyucuklarına pipetlendi. Üzeri kapatılarak 2 saat 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Plaka içindeki sıvı döküldü. Yıkama yapılmadan her bir kuyucuğa 100 µl belirleme ayracı A eklendi, üzeri kapatılarak 1 saat 37°C'de inkübasyona bırakıldı ve sonrasında 3 kez yıkama yapıldı. Kuyucuklardaki tüm yıkama solüsyonu uzaklaştırıldıktan sonra 100 µl belirleme ayracı B eklendi, üzeri kapatılarak 1 saat 37°C'de inkübasyona bırakıldı ve sonrasında 5 kez yıkama yapıldı. 90 µl substrat solüsyonu eklenerek üzeri yeni bir şeffaf filmle kapatıldı ve 15-30 dk. karanlıkta, 37°C'de inkübasyona bırakıldı. En son 50 µl reaksiyon durdurucu solüsyon eklendi ve 450 nm dalga boyunda okutuldu.

ELISA sonucunda pg/ml cinsinden elde edilen IL-1β, IL-10, MMP-8 ve VEGF protein konsantrasyonları sulandırma miktarı olan 0,7 ml ile çarpılarak total protein miktarı pg/ 60 s cinsinden hesaplandı. Ardından total protein miktarı her biri 30 s'lik zaman diliminde toplanmış ve aynı tüpte havuzlanmış iki örneğe ait DOS toplam

hacmine bölünerek protein konsantrasyonu hesaplandı ve sonuçlar pg/μl cinsinden elde edildi.

#### 3.4.7. TAOK miktarının belirlenmesi

TAOK ölçümü Erel tarafından geliştirilen <sup>160</sup> yöntemle gerçekleştirildi. Bu yöntem güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesinin ölçüldüğü kolorimetrik bir metottur. Örnekteki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikal çözeltisini, renksiz ABTS formuna çevirmektedir. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç elde edilmektedir. Kitin kalibrasyonunda E vitamininin suda çözünür bir analogu olan stabil antioksidan standardı [Trolox Equivalent (Trolox Eq.)] kullanılmaktadır.

TAOK analizi için 30 μl standart (1mmol Trolox Eq./l), DOS örneği ve deiyonize suyun her biri ilgili kuyucuklarına pipetlendi. Kuyucuklara 500 μl 1. araç eklendikten 30 s sonra spektrofotometre cihazında 660 nm absorbansta okutuldu ve veriler A1 olarak kaydedildi. Ardından tüm kuyucuklara 75 μl 2. araç eklenip 37 °C’de 5 dk. beklenilip 660 nm absorbansta okutuldu ve veriler A2 olarak kaydedildi.

Sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$A2-A1=\Delta\text{Abs standart, deiyonize su veya örnek}$$

$$\text{Sonuç} = \frac{(\Delta\text{Abs Su}) - (\Delta\text{Abs örnek})}{(\Delta\text{Abs Su}) - (\Delta\text{Abs standart})} \times 1 \text{ mmol Trolox Eq./l}$$

Optik okuyucu sonucunda mmol Trolox Eq./l cinsinden elde edilen toplam antioksidan konsantrasyonları sulandırma miktarı olan 0,0007 l ile çarpılarak total antioksidan miktarı mmol Trolox Eq. cinsinden hesaplandı. Ardından total antioksidan miktarı her biri 30 s’lik zaman diliminde toplanmış ve aynı tüpte havuzlanmış iki örneğe ait DOS toplam hacmine bölünerek antioksidan konsantrasyonu hesaplandı. Sonuçlar mmol Trolox Eq./μl/60 s. cinsinden verildi.

#### 3.4.8. TOS miktarının belirlenmesi

TOS ölçümünde Erel tarafından geliştirilen<sup>154</sup> yöntem kullanıldı. Bu yöntem örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ortamda bulunan reaksiyon hızlandırıcılarla birlikte ferröz iyon-o-dianisidin kompleksini ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanan kolorimetrik yöntemdir. Oluşan ferrik iyonları asidik ortamda renkli bir kompleks oluşturmaktadırlar. Oluşan rengin şiddeti örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkilidir. Reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülüp sonuç elde edilmektedir. Kalibratör olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanılmaktadır.

TOS analizi için 75 µl stabilize edilmiş standart solüsyon (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), DOS örneği ve deiyonize suyun her biri ilgili kuyucuklarına pipetlendi. Kuyucuklara 500 µl 1. ayraç eklendikten 30 s sonra spektrofotometre cihazında 530 nm absorbansta okutuldu ve veriler A1 olarak kaydedildi. Ardından tüm kuyucuklara 25 µl 2. ayraç eklenip 37 °C’de 5 dk. beklenilip 530 nm absorbansta okutuldu ve veriler A2 olarak kaydedildi. Sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$A2-A1=\Delta\text{Abs standart, deiyonize su veya örnek}$$

$$\text{Sonuç} = \frac{\Delta\text{Abs örnek}}{\Delta\text{Abs standart}} \times 10 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/l}$$

Optik okuyucu sonucunda µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eq./l cinsinden elde edilen toplam oksidan konsantrasyonları sulandırma miktarı olan 0,0007 l ile çarpılarak total oksidan miktarı µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eq. cinsinden hesaplandı. Ardından total oksidan miktarı her biri 30 s’lik zaman diliminde toplanmış ve aynı tüpte havuzlanmış iki örneğe ait DOS toplam hacmine bölünerek oksidan konsantrasyonu hesaplandı. Sonuçlar µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eq./µl/60 s cinsinden verildi.

#### 3.4.9. Oksidatif stres indeksi ölçümü

Oksidatif stres indeksi (OSİ) toplam peroksitlerin, toplam antioksidanlara bölünmesiyle elde edilen oransal bir indekstir. Çalışmamızda öncelikle TAOK mmol

birim değeri  $\mu\text{mol}$  cinsine dnstrld ardından aşağıdaki formülle gösterilen Şekilde OSİ hesaplandı:

$$\text{OSİ} = (\text{TOS } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq. /l}) / (\text{TAOK } \mu\text{mol Trolox Eq. /l}) \times 100$$

### **3.5. Mikrobiyolojik Analizlerin Yapılması**

Mikrobiyolojik analizler İzmir Kâtip elebi Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Doku Mühendisliği Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Hastaların subgingival plak rnekerinden sırasıyla RNA izolasyonu yapıldı ve cDNA elde edildi. Kantitasyon için gerçek zamanlı RT- PZR yöntemi kullanıldı.

#### **3.5.1. Subgingival plak rnekerinden RNA izolasyonu**

Çalışmamızda genomik RNA izolasyonu için ticari kit<sup>\*\*\*\*</sup> kullanıldı. RNA izolasyonu üretici firmanın talimatlarına göre yapıldı. 1.5 ml'lik santrifüj tüpü içindeki rneker,  $-80^\circ\text{C}$ 'den çıkarılıp çözünmesi için oda sıcaklığında bekletildi. Ardından  $4^\circ\text{C}$ 'de, 2,000 x gravite (g) de 5 dk. santrifüj edildi. Santrifüjden çıkan rnekerin üst kısımda biriken süpernatantları atılarak tüpün dibinde çökelen rnekerin üzerine 600  $\mu\text{l}$  lizis buffer ve 2-merkaptoetanol karışımı eklenerek süspansiyon içindeki hücrelerin membranlarının parçalanması için vortekslendi. Ardından ultrasonik banyo cihazına<sup>§§§§</sup> koyulan rnekerin oda sıcaklığında homojenizasyonu sağlandı. Tüplerin içine 600  $\mu\text{l}$  %70'lik etanol eklenerek tüpün dibinde çökelme izlenmeyinceye kadar iyice vortekslendi. Her bir tüpten 700  $\mu\text{l}$  örnek alınarak toplayıcı tp içindeki mRNA tutucu mikrofiltreli spin kolonuna yüklendi. 12,000 x g'de 15 s oda sıcaklığında santrifüj edildi. Toplayıcı tp içinde biriken sıvı atıldı. İŞlem bir kez tekrarlandı. Ardından spin kolona 700  $\mu\text{l}$  wash buffer 1 konulup 12,000 x g'de 15 s santrifüj edildi ve alttaki toplayıcı tp atılarak spin kolonu yeni bir toplayıcı tüpe yerleştirildi. Spin kolona 500  $\mu\text{l}$  wash buffer 2 konulup 12,000 x g'de 15 s santrifüj edildi, toplayıcı tüpte

---

<sup>\*\*\*\*</sup> PureLink™ RNA Mini Kit, Invitrogen, ABD

<sup>§§§§</sup> Elmasonic P, GmbH, Almanya

biriken sıvı atıldı. Wash buffer 2 ile yıkama ve santrifüj tekrarlandı. Toplayıcı tüpteki sıvı atılarak spin kolon tekrar aynı tüpe yerleştirildi ve kolon içindeki RNA bağlayıcı membranın tamamen kuruması için 12,000 x g'de 2 dk. santrifüj edildi. Toplayıcı tüp atıldı, spin kolon 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. Spin kolona 50 µl RNase-free su eklenerek oda sıcaklığında 1 dk. bekletildi. Son olarak en az 12,000 x g'de 2 dk. santrifüj edilerek membranda tutunan RNA'nın mikrosantrifüj tüpüne geçmesi sağlandı. Spin kolon atılarak mikrosantrifüj tüpünde biriken sıvı cDNA sentezine kadar -20°C'de saklandı.

### 3.5.2. RNA'dan tamamlayıcı DNA sentezi

Rastgele dağılmış primer şeması içeren yüksek kapasiteli cDNA ters transkripsiyon kiti<sup>\*\*\*\*\*</sup> kullanılarak cDNA sentezi yapıldı. Her türlü RNA molekülünün ilk zincir sentezi bu primerlerce sağlanmaktadır. Ters transkriptaz enzimiyle RNA'dan oluşacak cDNA miktarı ortamdaki RNA miktarına bağlıdır.

cDNA sentezi için öncelikle üretici firmanın talimatlarına uygun şekilde master mix hazırlandı. Örnek başına 2 µl 10X RT buffer, 0.8 µl 25X dNTP mix, 2 µl RT random primer, 1 µl multiscribe™ ters transkriptaz ve 4.2 µl nükleaz-free su eklendi. 96'lık mikrotitrasyon plaklarındaki kuyucuklara her bir örnek için 10 µl hazırlanan karışımdan eklendi, bir kuyucuğa sadece RNase-free su konuldu. Vortekslenmiş RNA örneklerinden 10 µl alınarak ilgili kuyucuktaki master mixin üzerine koyuldu, sadece master mix, sadece su bulunan birer kuyucuğa örnek koyulmadı. Mikrotitrasyon plakasının üzeri şeffaf sealer ile örtülerek standart PZR cihazında<sup>††††</sup> termal döngüyle cDNA sentezi sağlandı. Termal döngü koşulları üreticinin talimatlarına uygun şekilde programlandı (Tablo 2.1).

---

\*\*\*\*\* High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, Applied Biosystems™, ABD

†††† Techne®Prime, ABD

**Tablo 2.1:** Standart PZR çalışma protokolü

	1. Aşama	2. Aşama	3. Aşama	4. Aşama
<b>Sıcaklık</b>	25 °C	37 °C	86 °C	4 °C
<b>Süre</b>	10 dk.	120 dk.	5 dk.	-

Belirtilen süre sonunda mikrotitrasyon plakası, gerçek zamanlı PZR yapılmak üzere -20 °C’de saklandı.

### 3.5.3. cDNA’ların gerçek zamanlı PZR’de kantitasyonunun sağlanması

96’lık plaka içinde -20 °C’de saklanan cDNA’lar oda ısısına getirildikten sonra her bir kuyucuğa 20 µl hacimde RNase-free su eklenerek cDNA’lar ½ oranında sulandırıldı. Çalışılacak her mikroorganizma için 80 µl SYBR green, 10 µl primer F, 10 µl primer R ve 60 µl RNase su eklenerek ayrı ayrı SYBR green master miks<sup>\*\*\*\*</sup> hazırlandı. Çalışmamızda GenBank’tan elde edilen referans primer dizilimine uygun dizayn edilmiş ve ticari olarak hazırlanmış primerler kullanıldı. Bakterilere ait primer dizileri ve 16S rRNA sekanslarının GenBank katılım numaraları Tablo 2.2’de gösterildi. Ayrıca GenBank katılım numaralarına <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> internet adresinden ulaşılabilir.

Gerçek zamanlı PZR cihazına yerleştirilmek üzere 96’lık mikrotitre plakası içine kontrol grubu dahil her bir kuyucuğa 10 µl SYBR green master mix konuldu. Ardından kontrol grubu hariç total bakteri, *Aa*, *Pg*, *Tf*, *Td* ve *Fn* için bir hastaya ait cDNA örneklerinden ilgili kuyucuğa 5 µl konularak plaka gerçek zamanlı PZR cihazına<sup>\*\*\*\*\*</sup> yerleştirildi. Gerçek zamanlı PZR çalışma protokolü Tablo 2.3’de özetlenmiştir.

\*\*\*\* SYBR® Green PCR Master Mix, Applied Biosystems™, ABD

\*\*\*\*\* StepOnePlus™ Real-Time PCR System, Applied Biosystems™, ABD

**Tablo 2.2:** Bakterilere ait primer baz dizilimi

Bakteri Adı	Primer Yönü	Primer dizisi (5'→ 3')	GenBank Katılım numarası
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	F	GAACCTTACCTACTCTTGACATCCGAA	<u>M75035</u>
	R	TGCAGCACCTGTCTCAAAGC	
Total Bakteri	F	TCCTACGGGAGGCAGCAGT	<u>X80725</u>
	R	GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	F	AGGCAGCTTGCCATACTGCG	<u>X73964</u>
	R	ACTGTTAGCAACTACCGATGT	
<i>Tannerella forsythia</i>	F	GCGTATGTAACCTGCCCGCA	<u>L16495</u>
	R	TGCTTCAGTGTCAGTTATACCT	
<i>Treponema denticola</i>	F	TAATACCGAATGTGCTCATTACAT	<u>D85438</u>
	R	TCAAAGAAGCATTCCCTCTTCTTCTTA	
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	F	GAGACACGGCCCTTACTCCT	<u>AJ133496</u>
	R	TGCTGGATCAGACTTGTGGT	

F: Forward, R: Reverse

**Tablo 2.3:** Gerçek zamanlı PZR çalışma protokolü

	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Denatürasyon fazı	95°C	10 dk.	-
Amplifikasyon- Döngü fazı	95°C	15 s	40
	64.9°C	1 dk.	
Bağlanma fazı	95°C	15 s	-
	60°C	1 dk.	
	95°C	15 s	

Gerçek zamanlı PZR yönteminde döngü sayısı arttıkça floresan boyanın tespit ettiği cDNA miktarı da artmaktadır. Amplifikasyon sırasında tespit edilen floresan ışınım eşik değerinin aşıldığı döngü sayısına eşik döngü değeri (threshold cycle = Ct) denilmektedir. Çalışmamızda subgingival plak örneklerimizin analiz sonuçlarından elde edilen Ct değerlerini kullanarak Livak ve ark.'nın <sup>274</sup>  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  metoduyla mikroorganizmalarda başlangıca göre gerçekleşen kat değişim miktarları hesaplandı.

Bu yöntemle plak örnekleri içindeki *Aa*, *Pg*, *Tf*, *Td* ve *Fn*'nin total bakteri miktarına göre normalizasyonu sağlandı. Başlangıca göre 1. ve 3. ayda gerçekleşen hedef bakteri kat değişim miktarı aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$\Delta\Delta Ct: [(Ct_{\text{HEDEF BAKTERİ 1./3. AY}}) - (Ct_{\text{TOTAL BAKTERİ 1./3. AY}})] - [(Ct_{\text{HEDEF BAKTERİ BAŞ.}}) - (Ct_{\text{TOTAL BAKTERİ BAŞ.}})]$$

$$1./ 3. \text{ ayda başlangıca göre hedef bakteri kat değişim miktarı: } 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

Formülle elde edilen kat değişim miktarlarına Log10 transformasyonu uygulanarak bulgularımızda sunuldu.

### ***3.6. Verilerin İstatistiksel Analizi***

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi istatistik paket programı \*\*\*\*\* kullanılarak, bilgisayar ortamında gerçekleştirildi. Klinik, laboratuvar ve mikrobiyolojik verilerin sunulmasında ve değerlendirilmesinde aritmetik ortalama, standart sapma (ss), ortanca, minimum (min.) ve maksimum (maks.) gibi tanımlayıcı istatistik kullanıldı. Uygulanacak istatistiksel analizin tespit edilmesi adına klinik periodontal parametrelerin, biyokimyasal ve mikrobiyolojik verilerin normal dağılım gösterip göstermediğini değerlendirmek için Shapiro-Wilk testi yapıldı. Çalışma split mouth dizayna sahip olduğu için Shapiro-Wilk testi sonucu normal dağılıma sahip olan değişkenlerin grup içi karşılaştırmasında Tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi (ANOVA), Gruplar arası karşılaştırılmasında Bağımlı iki örneklem testi (pair T testi) uygulandı. Normal dağılıma sahip olmayan bağımlı değişkenlerin grup içi karşılaştırılmasında Friedman testi, ardından çoklu karşılaştırma için Wilcoxon testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırma Wilcoxon test uygulandı. Sonuçların korelasyon analizi için Spearman korelasyon testi uygulandı. Sonuçların istatistiksel anlamlılığı  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

---

\*\*\*\*\*SPSS versiyon 22



## **4. BULGULAR**

### **4.1. Klinik Bulgular**

Sistemik olarak sağlıklı, kronik periodontitise sahip 25 hasta 3 ay takip edilerek çalışmamız tamamlanmıştır. Çalışmamıza 12 kadın, 13 erkek hasta dahil edilmiş olup hastaların yaş ortalaması ve standart sapması  $38.2 \pm 6.7$ 'dir. Araştırmaya dahil edilen hastalarda üç aylık takip sürecinde CPT ve ilave ABSP uygulamasına bağlı herhangi bir komplikasyon ve klinik yan etki gözlenmedi. CPT ve/veya ABSP uygulaması esnasında 14 hastada kendi rızaları ile anestezi altında çalışıldı.

#### **4.1.1. Tüm ağız klinik periodontal durum**

Çalışmaya dahil edilen hastalarda bulunan diş sayısı ortalama ve standart sapma değerleri sırasıyla tüm ağızda  $25.12 \pm 3.49$ , test grubunda  $12.56 \pm 1.85$  ve kontrol grubunda  $12.56 \pm 1.75$  olarak bulundu. Hastaların test ve kontrol grubuna ait başlangıç, 1. ay ve 3. ay tüm ağız klinik periodontal parametrelerinden SCD, KAS, Gİ, Pİ ve SKY ortalamaları ve standart sapma değerleri, grup içi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ve gruplar arası (Bağımlı iki örneklem t testi) karşılaştırmaları Tablo 3.1.'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.1.:** Çalışma gruplarında tüm ağız klinik periodontal parametreler

		<b>Başlangıç</b>	<b>1.ay</b>	<b>3.ay</b>	<b>p değeri</b>
		Ortalama ± Ss	Ortalama ± Ss	Ortalama ± Ss	
<b>Gİ</b>	Test	1.67 ± 0.44	0.54 ± 0.27*	0.25 ± 0.14* #	p<0.05
	Kontrol	1.77 ± 0.33	0.34 ± 0.18*	0.39 ± 0.18*	p<0.05
	p değeri	0.373	<b>0.04</b>	<b>0.04</b>	
<b>Pİ</b>	Test	1.71 ± 0.29	0.65 ± 0.35*	0.54 ± 0.31*	p<0.05
	Kontrol	1.64 ± 0.33	0.61 ± 0.34*	0.53 ± 0.32*	p<0.05
	p değeri	0.410	0.696	0.902	
<b>SKY (%)</b>	Test	63.45 ± 23.76	10.91 ± 7.48*	8.82 ± 7.15*	p<0.05
	Kontrol	60.88 ± 23.59	10.89 ± 8.06*	9.86 ± 6.83*	p<0.05
	p değeri	0.703	0.993	0.603	
<b>SCD (mm)</b>	Test	3.32 ± 0.46	2.05 ± 0.27*	1.91 ± 0.24* #	p<0.05
	Kontrol	3.26 ± 0.63	2.09 ± 0.34*	2.03 ± 0.62*	p<0.05
	p değeri	0.440	0.619	0.319	
<b>KAS (mm)</b>	Test	3.47 ± 0.53	2.44 ± 0.37*	2.33 ± 0.36*	p<0.05
	Kontrol	3.45 ± 0.71	2.50 ± 0.45*	2.42 ± 0.67*	p<0.05
	p değeri	0.867	0.577	0.469	

Ss: Standart sapma, Gİ: Gingival indeks, Pİ: Plak indeks, SKY: Sondalamada kanama yüzdesi, SCD: Sondalama cep derinliği, KAS: Klinik ataşman seviyesi

\*: Başlangıca göre anlamlı istatistiksel farklılık, Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05

#: 1. aya göre anlamlı istatistiksel farklılık, Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05

#### 4.1.2. Tedavi edilen bölgelerin klinik periodontal durumu

Çalışmamızda 25 hastada toplam 750 adet periodontal cep tedavi edildi. Hastalarda 5 mm ve üzeri SCD bulunan 750 adet cebin 391 adeti test bölgesine, 359 adeti kontrol bölgesine aittir. Tedavi edilen toplam periodontal cepleri hastalık şiddeti açısından sınıfladığımızda 615 adet 5-6 mm SCD'ye sahip orta derin cep tedavi edilmişken, 135 adet 7 mm ve üzeri SCD'ye sahip derin periodontal cep tedavi edilmiştir. Orta derinlikli ceplerin 318 adeti test grubuna, 297 adeti kontrol grubuna aitken derin periodontal ceplerin 73 adeti test bölgesinde, 62 adeti kontrol bölgesinde bulunmaktadır. Tedavi edilen cepleri buldukları dişlere göre sınıfladığımızda test grubunda tedavi edilen ceplerin 141 adeti tek köklü dişlerde, 70 adeti premolar dişlerde, 180 adeti molar dişlerde bulunurken kontrol grubunda tedavi edilen ceplerin

122 adeti tek köklü dişlerde, 68 adeti premolar dişlerde, 169 adeti molar dişlerde bulunmaktadır.

#### *Tedavi edilen dişlerde Gİ, Pİ ve SKY*

Hastaların test ve kontrol gruplarında, başlangıçta 5 mm ve üzeri SCD'ye sahip tüm dişlerin başlangıç, 1. ay ve 3. ay Gİ, Pİ ve SKİ parametrelerine ait değerleri, grup içi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ve gruplar arası (Bağımlı iki örneklem t testi) karşılaştırmaları Tablo 3.2.'de gösterilmiştir.

Grup içi karşılaştırmalarda; tedavi sonrası 1. ve 3. aylarda, tüm gruplarda, başlangıç Gİ, Pİ ve SKY değerlerinde anlamlı azalma gözlemlendi ( $p < 0.05$ ).

Gİ değerlerinin grup içi karşılaştırılmasında hem test hem de kontrol gruplarında başlangıca göre 1. ayda ( $p < 0.001$ ) ve 3. ayda ( $p < 0.001$ ) anlamlı azalma saptandı. Test grubunda 1.aya göre 3. ayda Gİ'de anlamlı azalma gözlenirken ( $p = 0.005$ ), kontrol grubunda 1. ay ile 3. ay arasında Gİ'de anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p = 0.056$ ).

Pİ değerlerinin grup içi karşılaştırılmasında hem test hem de kontrol grubunda başlangıca göre 1. ayda ( $p < 0.001$ ) ve 3. ayda ( $p < 0.001$ ) Pİ'de anlamlı azalma saptanırken 1. ay ile 3. ay arasında test grubunda ( $p = 0.499$ ) ve kontrol grubunda ( $p = 0.129$ ) Pİ'de anlamlı fark görülmedi.

SKY değerlerinin grup içi karşılaştırılmasında hem test hem de kontrol grubunda başlangıca göre 1. ayda ( $p < 0.001$ ) ve 3. ayda ( $p < 0.001$ ) SKY'de anlamlı azalma saptandı. Bununla birlikte 1. ay ile 3. ay arasında test grubunda ( $p < 0.001$ ) ve kontrol grubunda ( $p < 0.001$ ) SKY'de anlamlı farklılık görülmedi.

Gruplar arası karşılaştırmada başlangıç, 1. ay ve 3. ayda Pİ değerlerinde istatistiksel bir farklılık gözlenmedi ( $p > 0.05$ ). Gİ ve SKY değerlerinde başlangıçta gruplar arasında farklılık görülmezken ( $p > 0.05$ ), 1. ayda ve 3. ayda gruplar arasında, test grubunun lehine, istatistiksel anlamlı farklılık bulunduğu görüldü ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 3.2.:** Çalışma gruplarında 5 mm ve üzeri periodontal cep bulunan dişlerin Gİ, Pİ ve SKY'lerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		<b>Başlangıç</b>	<b>1.ay</b>	<b>3.ay</b>	<b>p değeri</b>
		<b>Ortalama± Ss</b>	<b>Ortalama± Ss</b>	<b>Ortalama± Ss</b>	
<b>Gİ</b>	Test	1.84 ± 0.47	0.55 ± 0.29 *	0.38 ± 0.21 * #	p<0.05
	Kontrol	1.92 ± 0.25	0.68 ± 0.31 *	0.52 ± 0.23 *	p<0.05
	<b>p değeri</b>	0.218	<b>0.047</b>	<b>0.002</b>	
<b>Pİ</b>	Test	1.72 ± 0.45	0.67 ± 0.47 *	0.58 ± 0.35 *	p<0.05
	Kontrol	1.71 ± 0.36	0.70 ± 0.32 *	0.56 ± 0.33 *	p<0.05
	<b>p değeri</b>	0.846	0.754	0.687	
<b>SKY (%)</b>	Test	75.63 ± 23.93	9.48 ± 9.99 *	8.46 ± 6.71 *	p<0.05
	Kontrol	80.09 ± 18.15	13.43 ± 11.12 *	14.58 ± 10.60 *	p<0.05
	<b>p değeri</b>	0.265	<b>0.022</b>	<b>0,001</b>	

Ss: Standart sapma, Gİ: Gingival indeks, Pİ: Plak indeks, SKY: Sondalamada kanama yüzdesi  
 \*: Başlangıca göre anlamlı istatistiksel farklılık, Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05  
 #: 1. aya göre anlamlı istatistiksel farklılık, Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05

#### *Tedavi edilen tüm periodontal ceplerde SCD ve KAS*

Hastaların test ve kontrol gruplarına ait 5 mm ve üzeri tüm ceplerin başlangıç, 1. ay ve 3. ay SCD ve KAS değerlerinin grup içi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ve gruplar arası (Bağımlı iki örneklem t testi) karşılaştırmaları Tablo 3.3.'de, tedavi sonrası gerçekleşen değişim miktarlarının gruplar arası (Wilcoxon testi) karşılaştırılması Tablo 3.4.'de gösterilmiştir.

5 mm ve üzeri tedavi edilen tüm ceplerin, SCD ve KAS değerlerinin grup içi karşılaştırmasında hem test hem de kontrol gruplarında başlangıca göre 1. ayda (p<0.001) ve 3. ayda (p<0.001) SCD ve KAS değerlerinde anlamlı azalma saptandı. 1.aya göre 3. ayda test grubunda SCD (p<0.001) ve KAS (p=0.024) değerlerinde anlamlı azalma gözlenirken kontrol grubunda, SCD'de (p=0.184) azalma ve KAS

(p=0.218) değerlerinde artış gözlemlendi ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 3.3.).

Gruplar arası karşılaştırmada, SCD ve KAS değerlerinde, başlangıç, 1. ay ve 3. ayda gruplar arasında istatistiksel bir farklılık gözlemlenmedi (p>0.05) (Bkz. Tablo 3.3.).

**Tablo 3.3.:** Çalışma gruplarındaki 5 mm ve üzeri tüm ceplere ait SCD ve KAS değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		<b>Başlangıç</b>	<b>1.ay</b>	<b>3.ay</b>	<b>p değeri</b>
		Ortalama ± Ss	Ortalama ± Ss	Ortalama ± Ss	
<b>SCD (mm)</b>	Test	5.58 ± 0.98	2.74 ± 0.88*	2.51 ± 0.81*#	p<0.05
	Kontrol	5.54 ± 0.90	2.66 ± 0.89*	2.61 ± 0.85*	p<0.05
	<b>p değeri</b>	0.766	0.286	0.105	
<b>KAS (mm)</b>	Test	5.99 ± 1.207	3.38 ± 1.16*	3.27 ± 1.05*#	p<0.05
	Kontrol	5.94 ± 1.09	3.30 ± 1.13*	3.36 ± 1.15*	p<0.05
	<b>p değeri</b>	0.957	0.455	0.232	

Ss: Standart sapma, SCD: Sondalama cep derinliği, KAS: Klinik ataşman seviyesi

\*: Başlangıca göre anlamlı istatistiksel farklılık, Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05

#: 1. aya göre anlamlı istatistiksel farklılık, Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05

Çalışma gruplarında, 5 mm ve üzerindeki tüm ceplerde tedavi sonrası SCD ve KAS değerlerinde gerçekleşen değişim miktarlarını karşılaştırdığımızda, tedaviden sonraki 1. ay ile 3. ay arasında test grubunda, kontrol grubuna kıyasla SCD’de daha fazla azalma meydana geldiği ve gerçekleşen bu değişimin gruplar arasında anlamlı bir istatistiksel farklılık oluşturduğu görülmektedir (p=0.002). Test grubunda, kontrol grubuna kıyasla başlangıçtan 3. aya ve 1. aydan 3. aya KAS’da daha fazla azalma meydana geldiği ayrıca kontrol grubunda 1. aydan 3. aya KAS’da artış olduğu görüldü. KAS’da başlangıçtan 3. aya (p=0.036) ve 1. aydan 3. aya (p=0.008) gerçekleşen değişim miktarlarında, gruplar arasında anlamlı istatistiksel fark görüldü (Tablo 3.4.).

**Tablo 3.4.:** Çalışma gruplarındaki 5 mm ve üzeri tüm ceplere ait SCD ve KAS değişim miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması (Wilcoxon testi)

		<b>ΔBaşlangıç-1.ay</b> Ortanca (Min./Maks.) Ortalama± Ss	<b>ΔBaşlangıç-3.ay</b> Ortanca (Min./Maks.) Ortalama± Ss	<b>Δ1.ay- 3.ay</b> Ortanca (Min./Maks.) Ortalama± Ss
<b>SCD</b> <b>değişimi</b>	Test	3.00 (-2.00/ 7.00) 2.81 ± 1,06	3.00 (0.00/ 7.00) 3.07 ± 1.08	0.00 (-2.00/ 4.00) 0.25 ± 0.87
	Kontrol	3.00 (0.00/ 7.00) 2.88 ± 1.03	3.00 (0.00/ 7.00) 2.93 ± 1.01	0.00 (-3.00/ 3.00) 0.05 ± 0.76
	<b>p değeri</b>	0.653	0.085	<b>0.002</b>
<b>KAS</b> <b>değişimi</b>	Test	3.00 (-2.00/ 6.00) 2.61 ± 1.12	3.00 (-1.00/ 7.00) 2.73 ± 1.18	0.00 (-4.00/ 4.00) 0.11 ± 0.98
	Kontrol	3.00 (-1.00/ 7.00) 2.64 ± 1.17	2.00 (0.00/ 8.00) 2.57 ± 1.18	0.00 (-3.00/ 3.00) -0.06 ± 0.88
	<b>p değeri</b>	0.955	<b>0.036</b>	<b>0.008</b>

Ss: Standart sapma, Min.: Minimum, Maks.: Maksimum, SCD: Sondalama cep derinliği, KAS: Klinik ataşman seviyesi Δ=Fark, +: SCD/KAS'da kazanç, -: SCD/KAS'da kayıp

#### *Tedavi edilen orta ve derin periodontal ceplerde SCD ve KAS*

Tedavi edilen 5 mm ve üzeri tüm cepler hastalık şiddetine göre orta derinlikli (5-6 mm) ve derin (7 mm ve üzeri) cepler olarak sınıflandırıldı. Hastaların test ve kontrol gruplarına ait orta derinlikli ceplerin başlangıç, 1. ay ve 3. ay SCD ve KAS değerlerinin grup içi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ve gruplar arası (Bağımlı iki örneklem t testi) karşılaştırmaları Tablo 3.5.'de, tedavi sonrası gerçekleşen değişim miktarlarının gruplar arası (Wilcoxon testi) karşılaştırılması Tablo 3.6.'da gösterildi.

Orta derinlikli (5-6 mm) ceplerin grup içi karşılaştırmasında hem test hem de kontrol gruplarında başlangıca göre 1. ayda ( $p<0.05$ ) ve 3. ayda ( $p<0.05$ ) SCD ve KAS değerlerinde azalma görüldü. 1.aya göre 3. ayda test grubunda SCD'de anlamlı azalma gözlenirken ( $p<0.001$ ), test grubunda KAS ( $p=0.088$ ), kontrol grubunda SCD

(p=0.204) ve KAS (p= 0.435) değerlerinde anlamlı farklılık gözlenmedi (Bkz. Tablo 3.5.).

Gruplar arası karşılaştırmada, SCD ve KAS değerlerinde, başlangıç, 1. ay ve 3. ayda gruplar arasında istatistiksel bir fark görülmedi (p>0.05) (Bkz. Tablo 3.5.).

**Tablo 3.5.:** Çalışma gruplarındaki orta derinlikli (5-6 mm) ceplere ait SCD ve KAS değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		<b>Başlangıç</b>	<b>1.ay</b>	<b>3.ay</b>	<b>p değeri</b>
		Ortalama± Ss	Ortalama± Ss	Ortalama± Ss	
<b>SCD (mm)</b>	Test	5.16 ± 0.37	2.61 ± 0.74 *	2.39 ± 0.69*#	p<0.05
	Kontrol	5.17 ± 0.38	2.55 ± 0.82*	2.49 ± 0.73*	p<0.05
	<b>p değeri</b>	0.778	0.354	0.067	
<b>KAS (mm)</b>	Test	5.55 ± 0.77	3.19 ± 1.00*	3.11 ± 0.95*	p<0.05
	Kontrol	5.60 ± 0.76	3.15 ± 1.04*	3.19 ± 1.01*	p<0.05
	<b>p değeri</b>	0.354	0.583	0.213	

Ss: Standart sapma, SCD: Sondalama cep derinliği, KAS: Klinik ataşman seviyesi

\*: Başlangıca göre anlamlı istatistiksel farklılık, Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05

#: 1. aya göre anlamlı istatistiksel farklılık, Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05

Çalışma gruplarında tedavi sonrası başlangıçtan 1. aya ve 3. aya SCD ve KAS değerlerinde gerçekleşen değişim miktarlarını karşılaştırdığımızda gruplar arasında SCD ve KAS değerlerinin değişim miktarında anlamlı farklılık gözlenmedi (p>0.05) (Bkz. Tablo 3.6.). Test ve kontrol grubunda 1.ay ile 3.ay arasında, SCD'nin azaldığı ve gruplar arasında değişim miktarlarında anlamlı istatistiksel farklılık bulunduğu görüldü (p=0.010). KAS'da ise 1.ay ile 3.ay arasında, test grubunda azalma, kontrol grubunda artış olduğu ayrıca KAS'da 1. aydan 3. aya gerçekleşen değişim miktarlarında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu görüldü (p=0.046) (Bkz. Tablo 3.6.).

**Tablo 3.6.:** Çalışma gruplarındaki 5-6 mm orta derinlikli ceplere ait SCD ve KAS değişim miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması (Wilcoxon testi)

		$\Delta$ Başlangıç-1.ay Ortanca (Min./ Maks.) Ortalama $\pm$ Ss	$\Delta$ Başlangıç-3.ay Ortanca (Min./ Maks.) Ortalama $\pm$ Ss	$\Delta$ 1.ay- 3.ay Ortanca (Min./ Maks.) Ortalama $\pm$ Ss
<b>SCD değişimi</b>	Test	3.00 (-2.00/ 4.00) 2.53 $\pm$ 0.80	3.00 (0.00/ 4.00) 2.76 $\pm$ 0.77	0.00 (-2.00/ 2.00) 0.23 $\pm$ 0.77
	Kontrol	3.00 (0.00/ 5.00) 2.62 $\pm$ 0.82	3.00 (0.00/ 5.00) 2.68 $\pm$ 0.78	0.00 (-3.00/ 3.00) 0.05 $\pm$ 0.74
	<b>p değeri</b>	0.393	0.136	<b>0.010</b>
<b>KAS değişimi</b>	Test	2.00 (-2.00/ 4.00) 2.35 $\pm$ 0.98	2.50 (-1.00/ 6.00) 2.45 $\pm$ 1.00	0.00 (-4.00/ 3.00) 0.09 $\pm$ 0.91
	Kontrol	2.00 (-1.00/ 7.00) 2.44 $\pm$ 1.01	2.00 (0.00/ 8.00) 2.40 $\pm$ 1.03	0.00 (-3.00/ 3.00) -0.04 $\pm$ 0.83
	<b>p değeri</b>	0.484	0.269	<b>0.046</b>

Ss: Standart sapma, Min.: Minimum, Maks.: Maksimum, SCD: Sondalama cep derinliği, KAS: Klinik ataşman seviyesi,  $\Delta$ =Fark, +: SCD/KAS'da kazanç, -: SCD/KAS'da kayıp

Hastaların test ve kontrol gruplarına ait 7 mm ve üzeri derin ceplerin başlangıç, 1. ay ve 3. ay SCD ve KAS değerlerinin grup içi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ve gruplar arası (Bağımlı iki örneklem t testi) karşılaştırmaları Tablo 3.7.'de, tedavi sonrası gerçekleşen değişim miktarlarının gruplar arası (Wilcoxon testi) karşılaştırması Tablo 3.8.'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.7.:** Çalışma gruplarındaki 7 mm ve üzeri derin ceplere ait SCD ve KAS değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		<b>Başlangıç</b> Ortalama $\pm$ Ss	<b>1.ay</b> Ortalama $\pm$ Ss	<b>3.ay</b> Ortalama $\pm$ Ss	<b>p değeri</b>
<b>SCD (mm)</b>	Test	7.41 $\pm$ 0.72	3.30 $\pm$ 1.17*	3.02 $\pm$ 1.05*	p<0.05
	Kontrol	7.29 $\pm$ 0.58	3.19 $\pm$ 1.02*	3.14 $\pm$ 1.17*	p<0.05
	<b>p değeri</b>	0.421	0.91	0.431	
<b>KAS (mm)</b>	Test	7.87 $\pm$ 0.91	4.20 $\pm$ 1.42*	3.97 $\pm$ 1.16*	p<0.05
	Kontrol	7.59 $\pm$ 0.87	4.03 $\pm$ 1.24 *	4.19 $\pm$ 1.41*	p<0.05
	<b>p değeri</b>	0.145	0.747	0.45	

Ss: Standart sapma, SCD: Sondalama cep derinliği, KAS: Klinik ataşman seviyesi

\*: Başlangıca göre anlamlı istatistiksel farklılık, Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05



Derin ceplerde SCD ve KAS değerlerin grup içi karşılaştırılmasında hem test hem de kontrol gruplarında başlangıca göre 1. ayda ( $p<0.001$ ) ve 3. ayda ( $p<0.001$ ) anlamlı azalma saptandı (Friedman testi). Grup içi karşılaştırmada (Wilcoxon testi) 1.aya göre 3. ayda test grubunda SCD ( $p=0.084$ ) ve KAS ( $p=0.296$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Tablo 3.7.). Benzer şekilde kontrol grubunda SCD ( $p=0.650$ ) ve KAS ( $p=0.270$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi (Tablo 3.7.). Gruplar arası karşılaştırmada ise SCD ve KAS değerlerinde, başlangıç, 1. ay ve 3. ayda test ve kontrol grupları arasında istatistiksel bir fark görülmedi ( $p>0.05$ ) (Tablo 3.7.).

Çalışma gruplarında, derin ceplerde (7 mm ve üzeri), başlangıçtan 1. aya ve 3. aya kadar SCD değerlerinde gerçekleşen değişim miktarlarını karşılaştırdığımızda gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık görülmedi ( $p>0.05$ ). Başlangıç ile 3. ay arasında gerçekleşen KAS değerlerinin değişim miktarında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0.047$ ). Derin ceplerde (7 mm ve üzeri) tedavi sonrası KAS'ın 1.ay ile 3.ay arasında, test grubunda azaldığı, kontrol grubunda ise arttığı gözlemlendi. Bununla birlikte KAS'da 1. aydan 3. aya gerçekleşen değişim miktarlarında, gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık bulunduğu görüldü ( $p=0.047$ ) (Bkz. Tablo 3.8.).

**Tablo 3.8.:** Çalışma gruplarındaki 7 mm ve üzeri derin ceplere ait SCD ve KAS değişim miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması (Wilcoxon testi).

		$\Delta$ Başlangıç-1.ay	$\Delta$ Başlangıç-3.ay	$\Delta$ 1.ay- 3.ay
		Ortanca (Min./	Ortanca (Min./	Ortanca (Min./
		Maks.)	Maks.)	Maks.)
		Ortalama $\pm$ Ss	Ortalama $\pm$ Ss	Ortalama $\pm$ Ss
<b>SCD değişimi</b>	Test	4.00 (1.00/ 7.00) 4.04 $\pm$ 1.16	4.00 (2.00/ 7.00) 4.40 $\pm$ 1.16	0.00 (-2.00/ 4.00) 0.35 $\pm$ 1.21
	Kontrol	4.00 (2.00/ 7.00) 4.09 $\pm$ 1.03	4.00 (1.00/ 7.00) 4.14 $\pm$ 1.09	0.00 (2.00/ 4.00) 0.04 $\pm$ 0.85
	<b>p değeri</b>	0.583	0.186	0.079
<b>KAS değişimi</b>	Test	4.00 (1.00/ 6.00) 3.61 $\pm$ 1.16	4.00 (1.00/ 7.00) 3.91 $\pm$ 1.19	0.00 (-3.00/ 4.00) 0.30 $\pm$ 1.19
	Kontrol	4.00 (-1.00/ 7.00) 3.56 $\pm$ 1.44	3.00 (0.00/ 7.00) 3.40 $\pm$ 1.47	0.00 (-3.00/ 2.00) -0.16 $\pm$ 1.07
	<b>p değeri</b>	0.545	<b>0.047</b>	<b>0.025</b>

Ss: Standart sapma, Min.: Minimum, Maks.: Maksimum, SCD: Sondalama cep derinliği, KAS: Klinik ataşman seviyesi,  $\Delta$ =Fark, +: SCD/KAS'da kazanç, -: SCD/KAS'da kayıp

#### 4.1.3 Örnek alınan dişlere ait klinik periodontal durum

Çalışmamızda her bir hastadan sağ ve sol bölgesinde en derin 2 cepten, hasta başına toplam 4 bölgeden DOS ve subgingival plak örneği alınmıştır.

Hastaların test ve kontrol gruplarına ait örnek toplanan dişlerin başlangıç, 1. ay ve 3. ay Gİ, Pİ ve SKY değerlerinin grup içi (Friedman testi) ve gruplar arası (Mann-Whitney U testi) karşılaştırılması Tablo 3.9.'da gösterilmiştir.

Grup içi karşılaştırmalarda; tedavi sonrası 1. ve 3. aylarda, tüm gruplarda, başlangıç Gİ, Pİ ve SKY değerlerinde başlangıca göre 1. ayda ( $p<0.001$ ) ve 3. ayda ( $p<0.001$ ) istatistiksel anlamlık saptandı (Friedman testi) (Bkz. Tablo 3.9.).

Gİ değerlerinin grup içi karşılaştırması yapıldığında (Wilcoxon testi) hem test hem de kontrol grubunda başlangıca göre 1. ayda ve 3. ayda anlamlı düzeyde azalma olduğu görüldü ( $p<0.001$ ). Ayrıca 1.aya göre 3. ayda hem test ( $p=0.011$ ) hem de kontrol grubunda ( $p=0.011$ ) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma gözlemlendi (Tablo 3.9.).

Pİ değerlerinin grup içi karşılaştırması yapıldığında (Wilcoxon testi) hem test hem de kontrol gruplarında Pİ'nin başlangıca göre 1. ayda ve 3. ayda anlamlı derecede azaldığı görüldü ( $p<0.001$ ). Pİ'de test ( $p=0.645$ ) ve kontrol gruplarında ( $p=0.683$ ) 1. ay ile 3. ay arasında anlamlı farklılık gözlenmedi (Bkz. Tablo 3.9.).

SKY değerlerinin grup içi karşılaştırması yapıldığında (Wilcoxon testi) hem test hem de kontrol gruplarında SKY'de başlangıca göre 1. ayda ve 3. ayda anlamlı azalma saptanırken ( $p<0.001$ ), 1. ay ile 3. ay arasında SKY değerlerinde test ( $p=0.221$ ) ve kontrol gruplarında ( $p=0.823$ ) anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Tablo 3.9.).

Gruplar arası karşılaştırmada, başlangıç, 1. ay ve 3. ayda Pİ değerlerinde test ve kontrol grupları arasında istatistiksel bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Gİ ve SKY değerlerinde başlangıçta gruplar arasında fark görülmezken ( $p>0.05$ ), 1. ayda SKY ve 3. ayda Gİ ve SKY değerlerinde, test grubunun lehine, istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p<0.05$ ) (Bkz. Tablo 3.9.).

**Tablo 3.9.:** Çalışma gruplarındaki örnek toplanan dişlere ait Gİ, Pİ ve SKY değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		<b>Başlangıç</b> Ortanca (Min./Maks.) Ortalama± Ss	<b>1.ay</b> Ortanca (Min./Maks.) Ortalama± Ss	<b>3.ay</b> Ortanca (Min./Maks.) Ortalama± Ss	<b>p değeri</b>
<b>Gİ</b>	Test	2.00 (1.00/ 2.75) 1.87 ± 0.45	0.75 (0.00/ 2.00) * 0.62 ± 0.52	0.25 (0.00/ 1.50) ** 0.38 ± 0.41	p<0.001
	Kontrol	2.00 (1.00/ 3.00) 1.93 ± 0.40	0.75 (0.00/ 1.75) * 0.76 ± 0.49	0.50 (0.00/ 1.75) ** 0.54 ± 0.52	p<0.001
	<b>p değeri</b>	0.324	0.06	<b>0.049</b>	
<b>Pİ</b>	Test	2.00 (1.00/ 2.75) 1.76 ± 0.45	0.37 (0.00/ 2.00) * 0.54 ± 0.59	0.50 (0.00/ 2.00) * 0.50 ± 0.50	p<0.001
	Kontrol	2.00 (1.00/ 3.00) 1.76 ± 0.56	0.50 (0.00/ 2.00) * 0.66 ± 0.63	0.50 (0.00/ 2.00) * 0.62 ± 0.57	p<0.001
	<b>p değeri</b>	1.00	0.204	0.256	
<b>SKY (%)</b>	Test	100 (0/ 100) 79 ± 30	0 (0/ 100) * 9,50 ± 20.13	0 (0/ 50) * 5.50 ± 11.61	p<0.001
	Kontrol	100 (0/ 100) 85 ± 25	0 (0/ 75) * 17 ± 21.09	0 (0/ 50) * 16 ± 20.05	p<0.001
	<b>p değeri</b>	0.155	<b>0.007</b>	<b>0.002</b>	

Ss: Standart sapma, Min.: Minimum, Maks.: Maksimum, Gİ: Gingival indeks, Pİ: Plak indeks, SKY: Sondalamada kanama yüzdesi

\*: Başlangıca göre anlamlı istatistiksel farklılık, Wilcoxon, p<0.05

#: 1. aya göre anlamlı istatistiksel farklılık, Wilcoxon, p<0.05

Hastaların test ve kontrol gruplarına ait örnek toplanan dişlerin başlangıç, 1. ay ve 3. ay SCD ve KAS değerlerinin grup içi (Friedman testi) ve gruplar arası (Mann-Whitney U testi) karşılaştırılması Tablo 3.10.'da gösterilmiştir.

SCD ve KAS değerlerinin grup içi karşılaştırmasında hem test hem de kontrol gruplarında başlangıca göre 1. ayda (p<0.001) ve 3. ayda (p<0.001) anlamlı farklılık saptandı (Friedman testi) (Tablo 3.10.).

Grup içi karşılaştırmada (Wilcoxon testi), hem test hem de kontrol grubunda başlangıca göre 1. ayda ve 3. ayda anlamlı azalma görülürken (p<0.001). 1.aya göre 3. ayda test grubunda SCD (p=0.142) ve KAS (p=0.538) değerlerinde benzer şekilde kontrol grubunda SCD (p=0.059) ve KAS (p=0.479) değerlerinde anlamlı farklılık gözlenmedi (Bkz. Tablo 3.10.).

Gruplar arası karşılaştırmada, SCD ve KAS değerlerinde, başlangıç, 1. ay ve 3. ayda gruplar arasında istatistiksel bir fark görülmedi ( $p>0.05$ ) (Bkz. Tablo 3.10.).

**Tablo 3.10.:** Çalışma gruplarındaki örnek alınan dişlere ait SCD ve KAS değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		<b>Başlangıç</b>	<b>1. ay</b>	<b>3. ay</b>	<b>p değeri</b>
		Ortanca (Min./ Maks.)	Ortanca (Min./ Maks.)	Ortanca (Min./ Maks.)	
<b>SCD (mm)</b>	Test	4.00 (2.50/ 6.33) 4.08 ± 0.79	2.33 (1.17/ 4.17) * 2.26 ± 0.53	2.16 (1.17/ 3.17) * 2.15 ± 0.46	p<0.001
	Kontrol	3.75 (2.67/ 6.00) 3.92 ± 0.70	2.16 (1.50/ 4.00) * 2.26 ± 0.49	2.00 (1.50/ 3.67) * 2.16 ± 0.54	p<0.001
	<b>p değeri</b>	0.301	0.747	0.730	
<b>KAS (mm)</b>	Test	4.25 (2.50/ 7.17) 4.46 ± 1.01	2.66 (1.67/ 4.83) * 2.72 ± 0.80	2.50 (1.33/ 5.50) * 2.67 ± 0.77	p<0.001
	Kontrol	4.25 (3.00/ 7.33) 4.33 ± 0.87	2.66 (1.67/ 6.17) * 2.79 ± 0.89	2.41 (1.67/ 5.83) * 2.69 ± 0.87	p<0.001
	<b>p değeri</b>	0.319	0.704	0.992	

Ss: Standart sapma, Min.: Minimum, Maks.: Maksimum, SCD: Sondalama cep derinliği, KAS: Klinik ataşman seviyesi

\*: Başlangıca göre anlamlı istatistiksel farklılık, Wilcoxon,  $p<0.05$

Hastaların test ve kontrol gruplarına ait örnek toplanan dişlerin başlangıç, 1. ay ve 3. ay DOS değerlerinin grup içi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ve gruplar arası (Bağımlı iki örneklem t testi) karşılaştırmaları Tablo 3.11'de gösterilmiştir.

Grup içi karşılaştırmalarda; 60 s zaman dilimindeki DOS hacim değerlerinde, test grubunda, başlangıca göre 1. ayda ( $p=0.034$ ) anlamlı azalma olduğu ancak başlangıca göre 3. ayda ( $p=0.78$ ) ve 1. aya göre 3. ayda ( $p=1.00$ ) DOS hacim değerlerinde anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi. Kontrol grubunda başlangıca göre 3. ayda ( $p=1.00$ ) ve 1. aya göre 3. ayda ( $p=1.00$ ) DOS hacim değerlerinde anlamlı farklılık gözlenmezken ( $p>0.05$ ) başlangıca göre 1. ayda ( $p=0.019$ ) 60 s zaman dilimindeki DOS hacim değerlerinde anlamlı azalma olduğu görüldü (Bkz. Tablo 3.11.).

Gruplar arası karşılaştırmada, hiçbir zaman aralığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ) (Bkz. Tablo 3.11.).

**Tablo 3.11.:** Çalışma gruplarındaki örnek alınan dişlerin DOS hacimlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

	<b>Başlangıç</b> Ortalama $\pm$ Ss	<b>1. ay</b> Ortalama $\pm$ Ss	<b>3.ay</b> Ortalama $\pm$ Ss	p değeri
TEST ( $\mu\text{l}/60\text{ s}$ )	1.09 $\pm$ 0.37	0.81 $\pm$ 0.27 *	0.85 $\pm$ 0.37	$p<0.05$
KONTROL ( $\mu\text{l}/60\text{ s}$ )	1.25 $\pm$ 0.42	0.85 $\pm$ 0.41 *	0.86 $\pm$ 0.34	$p<0.05$
p değeri	0.067	0.688	0.927	

DOS: Diş eti oluşu sıvısı, Ss: Standart sapma

\*: Başlangıca göre anlamlı istatistiksel farklılık, Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi,  $p<0.05$

## 4.2. *Biyokimyasal Bulgular*

Araştırmamızda çalışma gruplarının DOS IL- 1 $\beta$ , IL- 10, VEGF, MMP- 8. TOS ve TAOK total miktarları ve konsantrasyon seviyeleri ile DOS OSİ değerleri, grup içi ve gruplar arası karşılaştırılarak incelendi.

### 4.2.1. *DOS IL-1 $\beta$ değerlerinin incelenmesi*

Hastaların test ve kontrol gruplarına ait başlangıç, 1. ay ve 3. ay DOS IL- 1 $\beta$  total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ve gruplar arası (Bağımlı iki örneklem t testi) karşılaştırılması Tablo 3.12.'de gösterilmiştir.

Grup içi karşılaştırmada; test grubunda başlangıca göre tedavi sonrası 1. ay ( $p=0.003$ ) ve 3. ayda ( $p=0.00$ ) benzer şekilde kontrol grubunda da başlangıca göre tedavi sonrası 1. ay ( $p=0.00$ ) ve 3. ayda ( $p=0.00$ ) DOS IL- 1 $\beta$  total miktarında anlamlı düzeyde azalma gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Bununla birlikte test grubunda 3. ayda 1. aya kıyasla DOS IL-1 $\beta$  total miktarı daha az bulunurken, kontrol grubunda DOS IL-1 $\beta$  total miktarında 1. aya kıyasla 3. ayda hafif bir artış olduğu görüldü. Ancak ne test ( $p=0.082$ ) ne de kontrol grubunda ( $p=1.00$ ) bu farklılık anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ) (Bkz. Tablo 3.12.).

DOS IL- 1 $\beta$  konsantrasyonlarının grup içi karşılaştırmada, test grubunda başlangıca göre 1. ay (p=0.539) ve 3. ayda (p=1.00) artış, 1. aya kıyasla 3. ayda (p=0.088) hafif bir azalma olduğu görülse de hiçbir örneklem zamanı arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmedi (p>0.05). Kontrol grubunda ise DOS IL- 1 $\beta$  konsantrasyonu başlangıca göre 1. ayda (p=0.044) anlamlı artış gösterdi. Ancak başlangıca göre 3. ayda (p=0.093) ve 1. aya göre 3. ayda (p=1.00) gerçekleşen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Gruplar arası karşılaştırmada, DOS IL- 1 $\beta$  total miktarı ve konsantrasyonları açısından gruplar arasında, hiçbir zaman aralığında istatistiksel bir farklılık gözlenmedi (p>0.05) (Bkz. Tablo 3.12.).

**Tablo 3.12:** alışma gruplarındaki DOS IL- 1 $\beta$  total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		<b>Başlangıç</b> Ortalama $\pm$ Ss	<b>1. ay</b> Ortalama $\pm$ Ss	<b>3. ay</b> Ortalama $\pm$ Ss	<b>p değeri</b>
<b>TOTAL</b> (pg)/ (60 s)	Test	12.08 $\pm$ 1.14	11.24 $\pm$ 0.94 *	10.52 $\pm$ 1.00 *	p<0.05
	Kontrol	12.19 $\pm$ 1.17	10.77 $\pm$ 1.13 *	10.9 $\pm$ 0.76 *	p<0.05
	p değeri	0.649	0.063	0.067	
<b>KONS.</b> (pg)/ ( $\mu$ l)	Test	12.68 $\pm$ 5.61	14.80 $\pm$ 4.93	14.28 $\pm$ 6.82	p>0.05
	Kontrol	10.90 $\pm$ 4.01	15.32 $\pm$ 6.62 *	15.82 $\pm$ 10.98	p<0.05
	p değeri	0.21	0.731	0.487	

DOS: Diş eti oluğu sıvısı, IL-1 $\beta$ : İnterlökin-1Beta, Ss: Standart sapma Kons.: Konsantrasyon  
\*: Başlangıca göre anlamlı istatistiksel farklılık, Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05

#### 4.2.2. DOS IL-10 değerlerinin incelenmesi

Hastaların test ve kontrol gruplarına ait başlangıç, 1. ay ve 3. ay DOS IL- 10 total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi (Friedman) ve gruplar arası (Wilcoxon) karşılaştırılması Tablo 3.13.'te gösterilmiştir.

Grup içi karşılaştırmada; test ve kontrol gruplarında DOS IL- 10 total miktarının başlangıca göre tedavi sonrası 1. ayda azaldığı, 3. ayda arttığı ve 1. aya kıyasla 3. ayda da arttığı görülse de ne test grubunda (p=0.648) ne de kontrol grubunda

(p= 0.141) örnekleme zamanları arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmedi (Friedman testi) (p>0.05) (Tablo 3.13.).

DOS IL- 10 konsantrasyonlarının grup içi karşılaştırmasında, test grubunda başlangıca göre tedavi sonrası 1. ayda artış, 3. ayda azalma ve 1. aya kıyasla 3. ayda azalma görülse de hiçbir örnekleme zamanı arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmedi (p=0.210). Kontrol grubunda ise örnekleme zamanları arasında istatistiksel bir farklılık saptandı (Friedman testi) (p=0.021) (Bkz. Tablo 3.13.). Grup içi karşılaştırmada (Wilcoxon testi), kontrol grubunda DOS IL- 10 konsantrasyonunda başlangıca göre 1. ayda (p=0.012) ve 3. ayda (p=0.042) anlamlı düzeyde arttığı gözlemlendi bununla birlikte kontrol grubunda 1. aya göre 3. ayda (p=0.367) gerçekleşen hafif artış anlamlı bulunmadı (Bkz. Tablo 3.13.).

**Tablo 3.13:** Çalışma gruplarındaki DOS IL- 10 total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		<b>Başlangıç</b> Ortanca (Min./Maks.)	<b>1. ay</b> Ortanca (Min./Maks.)	<b>3. ay</b> Ortanca (Min./Maks.)	<b>p değeri</b>
<b>TOTAL</b> <b>(Pg)/(60 s)</b>	Test	0.75 (0.31/2.00)	0.67 (0.30/4.14)	0.87 (0.36/1.86)	p=0.698
	Kontrol	0.83 (0.33/2.17)	0.68 (0.32/2.07)	1.06 (0.30/1.85)	p=0.141
	p değeri	0.545	0.946	0.088	
<b>KONS.</b> <b>(pg)/(µl)</b>	Test	0.99 (0.26/ 3.98)	1.10 (0.34/ 3.26)	0.92 (0.30/ 4.58)	p=0.210
	Kontrol	0.76 (0.22/ 2.80)	1.14 (0.38/ 3.70) *	1.27 (0.04/ 3.34) *	p=0.021
	p değeri	0.211	0.757	0.925	

DOS: Diş eti oluşu sıvısı, IL-10: İnterlökin-10, Min.: Minimum, Maks.: Maksimum, Kons.: Konsantrasyon

\*: Başlangıca göre anlamlı istatistiksel farklılık, Wilcoxon, p<0.05

Gruplar arası karşılaştırmada, DOS IL- 10 total miktarı ve konsantrasyonları açısından gruplar arasında, hiçbir zaman aralığında istatistiksel bir fark görülmedi (p>0.05) (Tablo 3.13.).

#### 4.2.3. DOS VEGF değerlerinin incelenmesi

Hastaların test ve kontrol gruplarına ait başlangıç, 1. ay ve 3. ay DOS VEGF total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi (Tekrarlı ölçümlerde varyans

analizi) ve gruplar arası (Bağımlı iki örneklem t testi) karşılaştırılması Tablo 3.14.'de gösterilmiştir.

Grup içi karşılaştırmada; DOS VEGF total miktarı tedavi sonrası başlangıca göre 1. ayda test (p=0.029) ve kontrol grubunda (p= 0.018) anlamlı düzeyde azaldı (p<0.05). Başlangıca göre 3. ayda da test (p= 0.589) ve kontrol (p= 0.731) gruplarında DOS VEGF total miktarının azaldı ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (P>0.05). 1. aya kıyasla 3. ayda test (p=0.615) ve kontrol (p=0.161) gruplarında DOS VEGF total miktarının arttığı görülmekle birlikte bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0.05) (Tablo 3.14.).

DOS VEGF konsantrasyonlarının grup içi karşılaştırmasında, test grubunda başlangıca göre tedavi sonrası 1. ayda (p= 1.00) ve 3. ayda (p= 0.578) ve 1. aya kıyasla 3. ayda (p=0.973) arttığı görülse de hiçbir örnekleme zamanı arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmedi (P>0.05). Kontrol grubunda da benzer şekilde başlangıca göre tedavi sonrası 1. ayda (p= 0.087) ve 3. ayda (p= 0.071) ve 1. aya kıyasla 3. ayda (p=1.00) arttığı görülse de hiçbir örnekleme zamanı arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmedi (P>0.05) (Tablo 3.14.).

Gruplar arası karşılaştırmada, DOS VEGF total miktarı ve konsantrasyonları açısından gruplar arasında, hiçbir zaman aralığında, istatistiksel bir fark görülmedi (p>0.05) (Tablo 3.14.).

**Tablo 3.14:** Çalışma gruplarındaki DOS VEGF total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		<b>Başlangıç</b> Ortalama ± Ss	<b>1. ay</b> Ortalama ± Ss	<b>3. ay</b> Ortalama ± Ss	<b>p değeri</b>
<b>TOTAL</b> <b>(Pg)/(60 s)</b>	Test	101.95 ± 31.24	86.58 ± 26.33	94.01 ± 27.60	p<0.05
	Kontrol	99.03 ± 28.02	84.19 ± 23.42	92.65 ± 27.19	p<0.05
	p değeri	0.615	0.574	0.792	
<b>KONS.</b> <b>(pg)/(µl)</b>	Test	103.98 ± 45.59	109.20 ± 37.67	120.15 ± 48.88	p>0.05
	Kontrol	87.12 ± 36.62	113.98 ± 44.84	120.71 ± 63.98	p>0.05
	p değeri	0.099	0.647	0.972	

DOS: Diş ei oluşu sıvısı, VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü, Ss: Standart sapma Kons.: Konsantrasyon

\*: Başlangıca göre anlamlı istatistiksel farklılık, Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05



#### 4.2.4. DOS MMP-8 değerlerinin incelenmesi

Hastaların test ve kontrol gruplarına ait başlangıç, 1. ay ve 3. ay DOS MMP-8 total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi (Friedman) ve gruplar arası (Wilcoxon) karşılaştırılması Tablo 3.15.'te gösterilmiştir. Çalışma gruplarında DOS MMP-8 total miktarı pg cinsinden, konsantrasyon seviyeleri ise pg/ µl/ 60 s cinsinden istatistiksel analizleri tamamlanmış, tabloda inceleme kolaylığı sağlaması için pg değerleri nanogram (ng)'a çevrilerek gösterilmiştir.

Grup içi karşılaştırmada; DOS MMP-8 total miktarları arasında test (p=0.326) ve kontrol (p=0.756) gruplarında, hiçbir örnekleme zamanı arasında istatistiksel farklılık görülmedi (Friedman testi) (p>0.05) (Tablo 3.15.).

DOS MMP-8 konsantrasyonlarının grup içi karşılaştırmasında, test grubunda hiçbir örnekleme zamanı arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmedi (Friedman testi) (p=0.326). Kontrol grubunda ise örnekleme zamanları arasında istatistiksel bir farklılık saptandı (Friedman testi) (p=0.006) (Tablo 3.15.). Grup içi karşılaştırmada (Wilcoxon testi), kontrol grubunda DOS MMP-8 konsantrasyonunda başlangıca göre 1. ayda (p=0.006) ve 3. ayda (p=0.009) anlamlı düzeyde artış olduğu, 1. aya göre 3. ayda (p=0.757) gerçekleşen azalmanın ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı görüldü (Tablo 3.15.). Gruplar arası karşılaştırmada, DOS MMP-8 total miktarı ve konsantrasyonları açısından gruplar arasında, hiçbir zaman aralığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (p>0.05) (Bkz. Tablo 3.15.).

**Tablo 3.15:** Çalışma gruplarındaki DOS MMP-8 total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		<b>Başlangıç</b>	<b>1. ay</b>	<b>3. ay</b>	<b>p değeri</b>
		Ortanca(Min./Maks.)	Ortanca(Min./Maks.)	Ortanca(Min./Maks.)	
<b>TOTAL</b>	Test	3.90 (3.62/ 4.11)	3.89 (2,94/ 4.12)	3.90 (3.14/ 4.12)	p=0.326
<b>(ng)/(60s)</b>	Kontrol	3.92 (3.15/ 4.12)	3.92 (3.36/ 4.12)	3.90 (3.21/ 4.09)	p=0.756
	p değeri	0.819	0.989	0.527	
<b>KONS.</b>	Test	3.57 (2,26/ 9.79)	4.76 (2,32/ 8.79)	4.65 (2,09/ 10.67)	p=0.326
<b>(ng)/(µl)</b>	Kontrol	3.11 (1,86/ 7.19)	5.21 (1,94/ 10.25) *	4.31(0.48/17.75) *	p=0.006
	p değeri	0.276	0.476	0.757	

DOS: Diş eti oluşu sıvısı, MMP-8: Matriks metalloproteinaz-8, Min.: Minimum, Maks.: Maksimum, Kons.: Konsantrasyon

\*: Başlangıca göre anlamlı istatistiksel farklılık, Wilcoxon, p<0.05

#### 4.2.5. DOS TOS değerlerinin incelenmesi

Hastaların test ve kontrol gruplarına ait başlangıç, 1. ay ve 3. ay DOS TOS'una ait total miktar ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ve gruplar arası (Bağımlı iki örneklem t testi) karşılaştırılması Tablo 3.16.'de gösterilmiştir. Çalışma gruplarında DOS TOS total miktarı  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq. cinsinden}$ , konsantrasyon seviyeleri ise  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq. } /\mu\text{l} /60 \text{ s cinsinden}$  istatistiksel analizleri tamamlanmış, tabloda inceleme kolaylığı sağlaması için  $\mu\text{mol}$  değerleri  $\text{nmol'e}$  çevrilerek gösterilmiştir.

Grup içi karşılaştırmada; DOS TOS total miktarının test grubunda başlangıca göre 1. ayda ( $p=1.00$ ) azaldığı, 3. ayda ( $p=0.909$ ) arttığı ve 1. aya kıyasla 3. ayda ( $p=1.00$ ) da artmış olduğu gözlenmekle birlikte hiçbir örneklem zamanı arasında istatistiksel farklılık görülmedi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ( $p=0.532 >0.05$ ) (Tablo 3.16.). DOS TOS total miktarının kontrol grubunda başlangıca göre 1. ayda ( $p=1.00$ ), 3. ayda ( $p=0.25$ ) ve 1. aya kıyasla 3. ayda ( $p=1.00$ ) artmış olduğu gözlendi ancak hiçbir örneklem zamanı arasında istatistiksel farklılık görülmedi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ( $p=0.332 >0.05$ ) (Bkz. Tablo 3.16.).

DOS TOS konsantrasyonlarının grup içi karşılaştırmasında, test grubunda başlangıca göre 1. ayda ( $p=0.553$ ), 3. ayda ( $p=0.185$ ) ve 1. aya kıyasla 3. ayda ( $p=1.00$ ) artmış olduğu gözlendi ancak hiçbir örneklem zamanı arasında istatistiksel farklılık görülmedi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ( $p=0.131 >0.05$ ) (Bkz. Tablo 3.16.). Kontrol grubunda ise örneklem zamanları arasında istatistiksel bir farklılık saptandı ( $p=0.008$ ). Başlangıca göre 1. ayda ( $p=0.009$ ) ve 3. ayda ( $p=0.002$ ) DOS TOS konsantrasyonunda gerçekleşen artış anlamlı bulunurken (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ( $p < 0.05$ ) 1. aya kıyasla 3. ayda gerçekleşen artış anlamlı görülmedi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ( $p=1.00$ ) (Bkz. Tablo 3.16.).

Gruplar arası karşılaştırmada, DOS MMP-8 total miktarı ve konsantrasyonları açısından gruplar arasında, hiçbir zaman aralığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ( $p > 0.05$ ) (Bkz. Tablo 3.16.).

**Tablo 3.16:** Çalışma gruplarındaki DOS TOS total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		<b>Başlangıç</b> Ortalama ± Ss	<b>1. ay</b> Ortalama ± Ss	<b>3. ay</b> Ortalama ± Ss	<b>p değeri</b>
<b>TOTAL</b> (nmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Eq.) / (60 s)	Test	1,61 ± 0.34	1,58 ± 0.37	1,70 ± 0.39	p=0.532
	Kontrol	1,58 ± 0.45	1,70 ± 0.49	1,76 ± 0.32	p=0.332
	p değeri	0.796	0.389	0.540	
<b>KONS.</b> (nmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Eq.)/(µl)	Test	1,73 ± 0.92	2,10 ± 0.79	2,41 ± 1,40	p=0.131
	Kontrol	1,45 ± 0.72	2,32 ± 0.92 *	2,52 ± 1,83 *	p=0.008
	p değeri	0.211	0.339	0.793	

DOS: Diş eti oluşu sıvısı, TOS: Total oksidan kapasitesi Ss: Standart sapma, Kons.:

Konsantrasyon, Eq.: Equivalent

\*: Başlangıca göre anlamlı istatistiksel farklılık, Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05

#### 4.2.6. DOS TAOK değerlerinin incelenmesi

Hastaların test ve kontrol gruplarına ait başlangıç, 1. ay ve 3. ay DOS TAOK'una ait total miktar ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi (Friedman) ve gruplar arası (Wilcoxon) karşılaştırılması Tablo 3.17.'de gösterilmiştir. Çalışma gruplarında DOS TAOK total miktarı mmol Trolox Eq. cinsinden, konsantrasyon seviyeleri ise mmol Trolox Eq./µl/60 s cinsinden istatistiksel analizleri tamamlanmış, tabloda inceleme kolaylığı sağlaması için mmol değerleri µmol'e çevrilerek gösterilmiştir.

Grup içi karşılaştırmada; DOS TAOK total miktarları arasında her iki grupta da başlangıca göre 1. ayda DOS TAOK total miktarının azaldığı, başlangıca göre 3. ayda ve 1. aya göre 3. ayda arttığı gözlenmekle birlikte ne test (p=0.756) ne de kontrol (p=0.333) grubunda, hiçbir örnekleme zamanı arasında istatistiksel bir farklılık görülmedi (Friedman testi) (p>0.05) (Tablo 3.17.).

**Tablo 3.17:** Çalışma gruplarındaki DOS TAOK total miktarları ve konsantrasyon seviyelerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		<b>Başlangıç</b> Ortanca (Min./Maks.)	<b>1. ay</b> Ortanca (Min./Maks.)	<b>3. ay</b> Ortanca (Min./Maks.)	<b>P</b> <b>değeri</b>
<b>TOTAL</b> ( $\mu\text{mol Trolox}$ Eq.)/(60 s)	Test	0.169 (0.023/0.493)	0.157 (0.062/0.588)	0.165 (0.086/0.380)	p=0.756
	Kontrol	0.168 (0.016/0.627)	0.140 (0.070/0.382)	0.166 (0.072/0.607)	p=0.333
	p değeri	0.840	0.954	0.427	
<b>KONS.</b> ( $\mu\text{mol Trolox}$ Eq.)/( $\mu\text{l}$ )	Test	0.189 (0.016/1.007)	0.203 (0.040/0.980)	0.221 (0.050/0.718)	p=0.432
	Kontrol	0.141 (0.007/1.101)	0.181 (0.040/0.627)	0.263 (0.012/0.897)	p=0.141
	p değeri	0.581	0.563	0.581	

DOS: Diş eti oluğu sıvısı, TAOK: Total antioksidan kapasitesi, Min.: Minimum, Maks.: Maksimum, Kons.: Konsantrasyon, Eq.: Equivalent

DOS TAOK konsantrasyonlarının her iki grupta da başlangıca göre 1. ve 3. ayda ve 1. aya göre 3. ayda arttığı gözlenmekle birlikte ne test (p=0.432) ne de kontrol (p=0.141) grubunda, hiçbir örnekleme zamanı arasında istatistiksel bir farklılık görülmedi (Friedman testi) (p>0.05) (Tablo 3.17.).

Gruplar arası karşılaştırmada, DOS TAOK total miktarı ve konsantrasyonları açısından gruplar arasında, hiçbir zaman aralığında, istatistiksel anlamlı fark görülmedi (p>0.05) (Tablo 3.17.).

#### 4.2.7. DOS OSİ değerlerinin incelenmesi

Hastaların test ve kontrol gruplarına ait başlangıç, 1. ay ve 3. ay OSİ değerlerinin grup içi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ve gruplar arası (Bağımlı iki örneklem t testi) karşılaştırılması Tablo 3.18.'de gösterilmiştir.

Grup içi karşılaştırmada; DOS OSİ değerlerinin test grubunda başlangıca göre 1. ayda (p=1.00) ve 3. ayda (p=1.00) azaldığı, 1. aya kıyasla 3. ayda (p=1.00) da artmış olduğu gözlenmekle birlikte hiçbir örnekleme zamanı arasında istatistiksel bir farklılık

görülmedi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ( $p=0.886$ ) (Bkz. Tablo 3.18.). Benzer şekilde kontrol grubunda DOS TOS total miktarının başlangıca göre 1. ayda ( $p=1.00$ ) ve 3. ayda ( $p=1.00$ ) azaldığı, 1. aya kıyasla 3. ayda ( $p=1.00$ ) da artmış olduğu gözlenmekle birlikte hiçbir örnekleme zamanı arasında istatistiksel bir farklılık görülmedi (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi) ( $p=0.895$ ) (Bkz. Tablo 3.18.). Gruplar arası karşılaştırmada, DOS OSİ değerleri açısından gruplar arasında, hiçbir zaman aralığında, istatistiksel bir farklılık gözlenmedi ( $p>0.05$ ) (Bkz. Tablo 3.18.).

**Tablo 3.18:** Çalışma gruplarındaki DOS OSİ değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		Başlangıç	1. ay	3. ay	P
		Ortalama $\pm$ Ss	Ortalama $\pm$ Ss	Ortalama $\pm$ Ss	değeri
TOS/ TAOK ( $\mu\text{mol}$ )/ ( $\mu\text{mol}$ ) *100	Test	131.45 $\pm$ 161.33	115.79 $\pm$ 64.07	116.14 $\pm$ 58.77	$p=0.886$
	Kontrol	136.25 $\pm$ 167.26	119.46 $\pm$ 57.64	124.57 $\pm$ 78.27	$p=0.895$
	p değeri	0.553	0.354	0.853	

DOS: Diş eti oluşu sıvısı, OSİ: Oksidatif stres indeksi, Ss: Standat sapma, TOS: Total oksidan seviye  
TAOK: Total antioksidan kapasite

#### 4.3. Mikrobiyolojik Bulgular

Çalışma gruplarında başlangıca göre 1. ay ve başlangıca göre 3. ayda subgingival plak örnekleri içerisindeki *Aa*, *Td*, *Pg*, *Tf* ve *Fn*'de gerçekleşen kat değişim miktarlarının grup içi (Friedman) ve gruplar arası (Wilcoxon) karşılaştırılması Tablo 3.19.'da ve Şekil 9'da gösterilmiştir.

Grup içi karşılaştırmada; test grubunda *Aa*'nın başlangıca göre 1. ayda ve başlangıca göre 3. ayda azaldığı, kontrol grubunda ise başlangıca göre 1. ayda ve başlangıca göre 3. ayda arttığı gözlenmekle birlikte çalışma gruplarında hiçbir örnekleme zamanı arasında istatistiksel bir farklılık bulunmadığı görüldü (Friedman testi) (Bkz. Tablo 3.19, Şekil 9). *Aa*'da gerçekleşen kat değişim miktarlarında, gruplar arasında istatistiksel bir fark görülmedi (Wilcoxon testi) (Bkz. Tablo 3.19, Şekil 9).

Grup içi karşılaştırmada;  $Td$ 'nin test grubunda ( $p=0.003$ ) ve kontrol grubunda ( $p=0.004$ ) başlangıca göre 1. ayda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görüldü.  $Td$ 'deki kat değişim miktarlarında başlangıca göre 3. ayda test ( $p=0.783$ ) ve kontrol ( $p=0.108$ ) gruplarında azalma gerçekleştiği ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi (Wilcoxon testi), ( $p>0.05$ ). Gruplar arası karşılaştırmada ise başlangıca göre 1. ay  $Td$  kat değişim miktarlarında test grubunun lehine istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Wilcoxon testi), ( $p=0.002$ ). Ancak başlangıca göre 3. ayda  $Td$  kat değişim miktarlarında gruplar arasında istatistiksel bir fark görülmedi (Wilcoxon testi) ( $p=0.092$ ) (Bkz. Tablo 3.19, Şekil 9).

Grup içi karşılaştırmada; test grubunda başlangıca göre 1. ayda  $Pg$  miktarı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldı (Wilcoxon testi), ( $p=0.004$ ). Test grubunda başlangıca göre 3. ayda  $Pg$  kat değişim miktarlarında azalma olduğu ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (Wilcoxon testi), ( $p=0.094$ ). Kontrol grubunda ise  $Pg$  miktarının başlangıca göre 1. ayda azaldığı, başlangıca göre 3. ayda arttığı görülmekle birlikte hiçbir örnekleme zamanında istatistiksel anlamlılık bulunmadı (Friedman testi) ( $p=0.623$ ). Gruplar arası karşılaştırmada ise başlangıca göre 1. ay ve başlangıca göre 3. ay  $Pg$  kat değişim miktarlarında test grubunun lehine istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu görüldü (Wilcoxon testi) (Bkz. Tablo 3.19, Şekil 9).

$Tf$ 'de gerçekleşen kat değişim miktarlarını incelediğimizde  $Tf$ 'nin test grubunda başlangıca göre 1. ayda ve başlangıca göre 3. ayda azaldığı görüldü. Bununla birlikte test grubunda istatistiksel bir anlamlılık görülmedi (Friedman testi) ( $p=0.179$ ). Kontrol grubunda ise  $Tf$ 'nin başlangıca göre 1. ayda azaldığı, başlangıca göre 3. ayda ise arttığı gözlemlendi. Ancak  $Tf$ 'de gerçekleşen bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Friedman testi) ( $p=0.061$ ). Gruplar arası karşılaştırmada  $Tf$  kat değişim miktarları açısından başlangıca göre 1. ayda test ve kontrol grupları arasında istatistiksel bir farklılık görülmezken, başlangıca göre 3. ayda test grubunun lehine istatistiksel olarak anlamlı düzeyde  $Tf$ 'de azalma gerçekleştiği görüldü (Wilcoxon testi) (Bkz. Tablo 3.19, Şekil 9).

$Fn$ 'nin çalışma gruplarında gerçekleşen kat değişim miktarlarını incelediğimizde hem test hem de kontrol grubunda başlangıca göre 1. ve 3. ayda

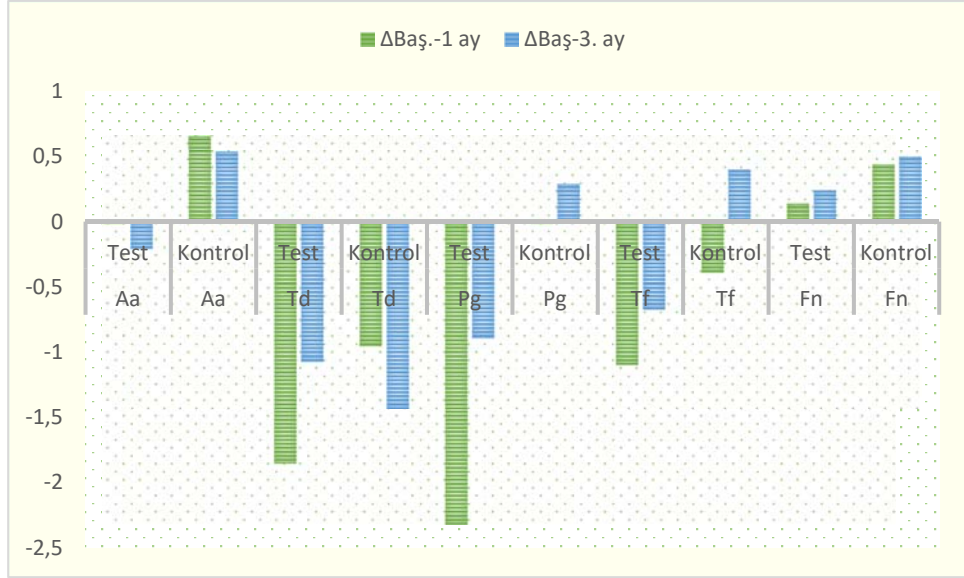
*Fn*'nin arttığı ancak bu artışlar her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Friedman testi). Gruplar arası karşılaştırmada başlangıca göre 1. ayda ve başlangıca göre 3. ayda *Fn* kat değişim miktarlarında test ve kontrol grupları arasında istatistiksel bir farklılık bulunduğu, test grubunda her iki zaman diliminde de daha az *Fn* artışı olduğu görüldü (Wilcoxon testi) (Bkz. Tablo 3.19, Şekil 9).

**3.19:** Çalışma gruplarındaki subgingival mikrobiyal plakta *Aa*, *Td*, *Pg*, *Tf* ve *Fn*'nin başlangıca göre örnekleme zamanlarındaki kat değişimleri

		1.ay kat değişim	3.ay kat değişim	p değeri
		Ortanca (Min./ Maks.)	Ortanca (Min./Maks.)	
<i>Aa</i>	Test	-0.01 (-4.50/2.14)	-0.21 (6.92/6.85)	0.662
$\log_{10} (2^{-\Delta\Delta Ct})$	Kontrol	0.66 (-5.75/ 2.58)	0.54 (-4.61/8.18)	0.607
	p değeri	0.795	0.795	
<i>Td</i>	Test	-1.85 (-8.13/2.78) *	-1.07(-9.84/2.65)	0.021
$\log_{10} (2^{-\Delta\Delta Ct})$	Kontrol	-0.95 (-3.92/1.25) *	-1.43 (-5.99/3.52)	0.036
	p değeri	<b>0.002</b>	0.092	
<i>Pg</i>	Test	-2.32 (-5.76/2.94) *	-0.89 (-6.89/2.75)	0.042
$\log_{10} (2^{-\Delta\Delta Ct})$	Kontrol	-0.01 (-5.90/2.79)	0.29 (-5.12/3.93)	0.623
	p değeri	<b>0.014</b>	<b>0.003</b>	
<i>Tf</i>	Test	-1.09 (-4.19/3.83)	-0.67 (-5.43/2.98)	0.179
$\log_{10} (2^{-\Delta\Delta Ct})$	Kontrol	-0.39 (-4.42/2.93)	0.40 (-5.22/3.39)	0.061
	p değeri	0.983	<b>0.022</b>	
<i>Fn</i>	Test	0.14 (-3.16/2.78)	0.24 (-3.74/4.81)	0.538
$\log_{10} (2^{-\Delta\Delta Ct})$	Kontrol	0.44 (-4.31/3.38)	0.50 (-8.19/5.78)	0.063
	p değeri	<b>0.016</b>	<b>0.039</b>	

Min.: Minimum, Maks.: Maksimum, *Aa*: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Td*: *Treponema denticola*, *Pg*: *Porphyromonas gingivalis*, *Tf*: *Tannerella forsythia*, *Fn*: *Fusobacterium nucleatum*, +: Artış, -: Azalma

\*: Bakteri kat değişiminde başlangıca göre istatistiksel anlamlılık, Wilcoxon, p<0.05



Şekil 9: Aa, Td, Pg, Tf ve Fn'nin başlangıca göre örnekleme zamanlarındaki kat değişimleri

#### 4.4. Korelasyonlar

Çalışma gruplarında tedavi edilen 5 mm ve üzeri tüm ceplere ve örnek toplanan dişlere ait periodontal klinik parametrelerin kendi arasındaki Spearman korelasyon sonuçları Tablo 3.20'de verilmiştir.

Test ve kontrol gruplarındaki klinik parametrelerin kendi arasındaki korelasyon değerlendirme sonuçlarına göre:

- 1-) Test ve kontrol gruplarında tedavi edilen tüm cepler ve örnek toplanan dişlere ait SCD ile diğer tüm klinik parametreler arasında pozitif çok güçlü korelasyon
- 2-) Test ve kontrol gruplarında tedavi edilen tüm cepler ve örnek toplanan dişlere ait KAS ile diğer tüm klinik parametreler arasında pozitif çok güçlü korelasyon
- 3-) Test ve kontrol gruplarında tedavi edilen tüm cepler ve örnek toplanan dişlere ait Gİ ile diğer tüm klinik parametreler arasında pozitif çok güçlü korelasyon
- 4-) Test ve kontrol gruplarında tedavi edilen tüm cepler ve örnek toplanan dişlere ait Pİ ile diğer tüm klinik parametreler arasında pozitif çok güçlü korelasyon



5-) Test ve kontrol gruplarında tedavi edilen tüm cepler ve örnek toplanan dişlere ait SKY ile diğer tüm klinik parametreler arasında pozitif çok güçlü korelasyon saptandı.

**Tablo 3.20:** Çalışma gruplarında klinik parametrelerin kendi arasındaki korelasyonu (Spearman korelasyonu)

		Örnek alınan dişler					Tedavi edilen tüm cepler					
		SCD	KAS	Gİ	Pİ	SKY	SCD	KAS	Gİ	Pİ	SKY	
TEST GRUBU	Örnek alınan dişler	SCD Kor. kats.	1	0.885**	0.407**	0.688**	0.826**	0.896**	0.869**	0.817**	0.670**	0.794**
		P değeri		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		KAS Kor. kats.	0.885**	1	0.424**	0.628**	0.759**	0.796**	0.842**	0.759**	0.625**	0.713**
		P değeri	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		Gİ Kor. kats.	0.407**	0.424**	1	0.322**	0.370**	0.353**	0.322**	0.350**	0.322**	0.340**
		P değeri	0.00	0.00		0.001	0.001	0.002	0.005	0.002	0.006	0.003
	Tedavi edilen tüm	Pİ Kor. kats.	0.688**	0.622**	0.322**	1	0.742**	0.780**	0.750**	0.820**	0.869**	0.792**
		P değeri	0.00	0.00	0.001		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		SKY Kor. kats.	0.826**	0.759**	0.370**	0.742**	1	0.824**	0.772**	0.881**	0.750**	0.911**
		P değeri	0.00	0.00	0.001	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		SCD Kor. kats.	0.896**	0.796**	0.353**	0.780**	0.824**	1	0.966**	0.812**	0.721**	0.807**
		P değeri	0.00	0.00	0.002	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00
KONTROL GRUBU	Örnek alınan dişler	KAS Kor. kats.	0.869**	0.842**	0.322**	0.750**	0.772**	0.966**	1	0.755**	0.668**	0.747**
		P değeri	0.00	0.00	0.005	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00
		Gİ Kor. kats.	0.817**	0.759**	0.350**	0.820**	0.881**	0.812**	0.755**	1	0.892**	0.944**
		P değeri	0.00	0.00	0.002	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00
		Pİ Kor. kats.	0.670**	0.625**	0.322**	0.869**	0.750**	0.721**	0.668**	0.892**	1	0.846**
		P değeri	0.00	0.00	0.006	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00
	Tedavi edilen tüm	SKY Kor. kats.	0.794**	0.713**	0.340**	0.792**	0.911**	0.807**	0.747**	0.944**	0.846**	1
		P değeri	0.00	0.00	0.003	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
		SCD Kor. kats.	1	0.859**	0.526**	0.637**	0.872**	0.913**	0.866**	0.824**	0.699**	0.851**
		P değeri		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		KAS Kor. kats.	0.859**	1	0.506**	0.521**	0.761**	0.786**	0.813**	0.710**	0.623**	0.744**
		P değeri	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Örnek alınan dişler	Gİ Kor. kats.	0.526**	0.506**	1	0.322**	0.485**	0.496**	0.512**	0.405**	0.262**	0.416**	
	P değeri	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.023	0.00	
	Pİ Kor. kats.	0.637**	0.521**	0.322**	1	0.872**	0.696**	0.632**	0.824**	0.840**	0.754**	
	P değeri	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	SKY Kor. kats.	0.872**	0.761**	0.485**	0.872**	1	0.854**	0.803**	0.854**	0.713**	0.897**	
	P değeri	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Tedavi edilen tüm	SCD Kor. kats.	0.913**	0.786**	0.496**	0.696**	0.854**	1	0.966**	0.880**	0.788**	0.896**	
	P değeri	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	
	KAS Kor. kats.	0.866**	0.813**	0.512**	0.632**	0.803**	0.966**	1	0.809**	0.716**	0.839**	
	P değeri	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	
	Gİ Kor. kats.	0.824**	0.710**	0.405**	0.824**	0.854**	0.880**	0.809**	1	0.890**	0.909**	
	P değeri	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	
Pİ Kor. kats.	0.699**	0.623**	0.262**	0.840**	0.713**	0.788**	0.716**	0.890**	1	0.819**		
	P değeri	0.00	0.00	0.023	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	
SKY Kor. kats.	0.851**	0.744**	0.416**	0.754**	0.897**	0.896**	0.839**	0.909**	0.819**	1		
	P değeri	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			

Kor. kats.: Korelasyon katsayısı, SCD: Sondalama cep derinliği, KAS: Klinik ataşman seviye Gİ: Gingival indeks, Pİ: Plak indeks, SKY: Sondalamada kanama yüzdesi

\*p<0,05, \*\* p<0,01

Çalışma gruplarında biyokimyasal, mikrobiyolojik ve klinik bulgular arasında gözlenen korelasyonlar Tablo 3.21 ve Tablo 3.22' de gösterilmiştir. Bu tablolarda

çalışmamızın sonuçlarında korelasyon bulunan önemli parametreler gösterilmiş olup korelasyon gözlenmeyen parametreler tabloya eklenmemiştir.

Test grubunda TOS, TAS ve OSİ total miktarları ile klinik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik parametreler arasında korelasyon saptanmadı (Spearman korelasyon) ( $p>0.05$ ).

Test grubunda örnek alınan dişlere ait SCD, KAS, Gİ, Pİ ve SKY değerleri, DOS IL-1 $\beta$ , IL-10, VEGF, MMP-8 total miktarları ve subgingival plak örneklerindeki *Aa*, *Td*, *Pg*, *Tf* ve *Fn* seviyelerinde gerçekleşen kat değişim miktarlarının birbirleriyle olan korelasyonları Tablo 3.21’de gösterilmiştir.

Test grubunda biyokimyasal, mikrobiyolojik ve örnek alınan dişlere ait klinik parametrelerin birbirleri arasındaki korelasyon değerlendirmesi sonuçlarına göre:

1. IL-1 $\beta$  ile biyokimyasal parametrelerden sadece IL-10 arasında negatif yönde korelasyon, IL-1 $\beta$  ile örnek alınan dişlere ait SCD, KAS, Gİ VE SKY arasında pozitif yönde güçlü korelasyon, Pİ ile pozitif yönde korelasyon

2. IL-10 ile VEGF ve MMP-8 arasında ayrıca IL-10 ile tüm bakteriler arasında pozitif yönde güçlü korelasyon

3. MMP-8 ile IL-10 ve VEGF arasında ayrıca MMP-8 ile *Td*, *Pg*, *Tf*, *Fn* arasında pozitif yönde güçlü korelasyon, *Aa* arasında pozitif yönde korelasyon

4. VEGF ile IL-10 ve MMP-8 arasında, VEGF ile tüm bakteriler arasında ayrıca VEGF ile SCD, KAS, Gİ arasında pozitif yönde güçlü korelasyon, VEGF ile SKY arasında pozitif yönde korelasyon

5. Tüm bakteriler arasında pozitif yönde güçlü korelasyon

6. *Td* ve *Pg* ile SCD ve SKY arasında pozitif yönde güçlü korelasyon, *Td* ile KAS, Gİ ve Pİ arasında pozitif yönde korelasyon, *Pg* ile KAS ve Gİ arasında pozitif yönde korelasyon

7. *Tf* ile SCD arasında pozitif yönde güçlü korelasyon, *Tf* ile SKY arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (Bkz. Tablo 3.21).

**Tablo 3.21:** Test grubunda biyokimyasal, mikrobiyolojik ve örnek alınan dişlere ait klinik parametrelerin birbirleriyle korelasyonu (Spearman korelasyonu)

		<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>IL-10</b>	<b>VEGF</b>	<b>MMP-8</b>	<b>Aa</b>	<b>Td</b>	<b>Pg</b>	<b>Tf</b>	<b>Fn</b>
		(pg)/(60 s)	(pg)/(60 s)	(pg)/(60 s)	(pg)/(60 s)	(2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	(2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	(2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	(2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	(2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )
<b>IL-1<math>\beta</math></b> (pg)/(60 s)	Kor. kats.	1.00	<b>-0.229*</b>	0.047	-0.177	-0.005	0.072	0.055	0.038	-0.133
	P değeri		0.048	0.689	0.129	0.970	0.577	0.690	0.787	0.298
<b>IL-10</b> (pg)/(60 s)	Kor.kats.	<b>-0.229*</b>	1.00	<b>0.634**</b>	<b>0.557**</b>	<b>0.448**</b>	<b>0.566**</b>	<b>0.463**</b>	<b>0.498**</b>	<b>0.569**</b>
	P değeri	0.048		0.00	0.00	0.001	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>VEGF</b> (pg)/(60 s)	Kor. kats.	0.047	<b>0.634**</b>	1.00	<b>0.537**</b>	<b>0.420**</b>	<b>0.556**</b>	<b>0.527**</b>	<b>0.531**</b>	<b>0.461**</b>
	P değeri	0.689	0.00		0.00	0.002	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>MMP-8</b> (pg)/(60 s)	Kor. kats.	-0.177	<b>0.557**</b>	<b>0.537**</b>	1.00	<b>0.349*</b>	<b>0.464**</b>	<b>0.420**</b>	<b>0.470**</b>	<b>0.449**</b>
	P değeri	0.129	0.00	0.00		0.012	0.00	0.002	0.00	0.00
<b>Aa</b> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	Kor. kats.	-0.005	<b>0.448**</b>	<b>0.420**</b>	<b>0.349*</b>	1.00	<b>0.725**</b>	<b>0.871**</b>	<b>0.908**</b>	<b>0.981**</b>
	P değeri	0.970	0.001	0.002	0.012		0.00	0.00	0.00	0.00
<b>Td</b> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	Kor. kats.	0.072	<b>0.566**</b>	<b>0.556**</b>	<b>0.464**</b>	<b>0.725**</b>	1.00	<b>0.915**</b>	<b>0.881**</b>	<b>0.778**</b>
	P değeri	0.577	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00
<b>Pg</b> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	Kor. kats.	0.055	<b>0.463**</b>	<b>0.527**</b>	<b>0.420**</b>	<b>0.871**</b>	<b>0.915**</b>	1.00	<b>0.980**</b>	<b>0.863**</b>
	P değeri	0.690	0.00	0.00	0.002	0.00	0.00		0.00	0.00
<b>Tf</b> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	Kor. kats.	0.038	<b>0.498**</b>	<b>0.531**</b>	<b>0.470**</b>	<b>0.908**</b>	<b>0.881**</b>	<b>0.980**</b>	1.00	<b>0.893**</b>
	P değeri	0.787	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00
<b>Fn</b> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	Kor. kats.	-0.133	<b>0.569**</b>	<b>0.461**</b>	<b>0.449**</b>	<b>0.981**</b>	<b>0.778**</b>	<b>0.863**</b>	<b>0.893**</b>	1.00
	P değeri	0.298	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
<b>SCD</b> (mm)	Kor. kats.	<b>0.391**</b>	0.116	<b>0.316**</b>	0.107	0.228	<b>0.481**</b>	<b>0.429**</b>	<b>0.406**</b>	0.106
	P değeri	0.001	0.321	0.006	0.363	0.108	0.00	0.001	0.002	0.410
<b>KAS</b> (mm)	Kor. kats.	<b>0.342**</b>	0.014	<b>0.313**</b>	0.014	0.111	<b>0.291*</b>	<b>0.285*</b>	0.255	-0.079
	P değeri	0.003	0.903	0.006	0.906	0.438	0.021	0.037	0.062	0.536
<b>Gİ</b>	Kor. kats.	<b>0.372**</b>	-0.050	<b>0.414**</b>	-0.062	0.188	<b>0.145*</b>	<b>0.203*</b>	0.177	0.045
	P değeri	0.001	0.673	0.00	0.603	0.191	0.265	0.144	0.205	0.732
<b>Pİ</b>	Kor. kats.	<b>0.293*</b>	0.013	0.216	0.095	0.052	<b>0.274*</b>	0.137	0.121	-0.081
	P değeri	0.011	0.912	0.063	0.416	0.717	0.030	0.322	0.383	0.526
<b>SKY</b> (%)	Kor. kats.	<b>0.336**</b>	-0.071	<b>0.234*</b>	0.117	0.171	<b>0.333**</b>	<b>0.373**</b>	<b>0.336*</b>	-0.027
	P değeri	0.003	0.546	0.043	0.319	0.229	0.008	0.005	0.013	0.833

Kor. kats.: Korelasyon katsayısı0. IL-1 $\beta$ : İnterlökin-1 beta, IL-10: İnterlökin-10, VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü, MMP-8: Matris metalloproteinaz-8, *Aa*: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Td*: *Treponema denticola*, *Pg*: *Porphyromonas gingivalis*, *Tf*: *Tannerella forsythia*, *Fn*: *Fusobacterium nucleatum*, SCD: Sondalama cep derinliği0, KAS: Klinik ataşman seviye Gİ: Gingival indeks0, Pİ: Plak indeks, SKY: Sondalamada kanama yüzdesi  
\*p<0,05, \*\* p<0,01

Kontrol grubunda TOS, TAS ve OSİ total miktarları ile klinik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik parametreler arasında korelasyon bulunmadı (Spearman korelasyon) ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubunda örnek alınan dişlere ait SCD, KAS, Gİ, Pİ ve SKY değerleri, DOS IL-1 $\beta$ , IL-10, VEGF, MMP-8 total miktarları ve subgingival plak örneklerindeki *Aa*, *Td*, *Pg*, *Tf* ve *Fn* seviyelerinde gerçekleşen kat değişim miktarlarının birbirleriyle olan korelasyonları Tablo 3.22’de gösterilmiştir.

Kontrol grubunda biyokimyasal, mikrobiyolojik ve örnek alınan dişlere ait klinik parametrelerin birbirleri arasındaki korelasyon değerlendirmesinde öne çıkan sonuçlara göre:

1. IL-1 $\beta$  ile örnek alınan dişlere ait Gİ, Pİ ve SKY arasında pozitif güçlü korelasyon, IL-1 $\beta$  ile SCD ve KAS arasında pozitif yönde korelasyon, IL-1 $\beta$  ile *Fn* arasında negatif yönde korelasyon

2. IL-10, VEGF ve MMP-8’in birbirleri arasında pozitif yönde güçlü korelasyon, IL-10 ve VEGF ile tüm bakteriler arasında pozitif yönde güçlü korelasyon

3. IL-10 ile Gİ ve Pİ arasında pozitif yönde korelasyon, VEGF ile tüm klinik parametreler arasında pozitif yönde güçlü korelasyon

4. MMP-8 ile SCD ve Pİ arasında pozitif yönde kuvvetli korelasyon, MMP-8 ile *Pg*, *Td* ve *Tf* arasında pozitif yönde güçlü korelasyon, MMP-8 ile *Aa* ve *Fn* arasında pozitif yönde korelasyon

5. Gİ ile *Td*, *Tf*, *Pg* arasında pozitif yönde güçlü korelasyon, Gİ ile *Aa* ve *Fn* arasında pozitif yönde korelasyon

6. *Td* ile SCD, KAS, Gİ arasında pozitif yönde güçlü korelasyon, *Td* ile SKY arasında pozitif yönde korelasyon bulunduğu görüldü (Bkz. Tablo 3.22)

**Tablo 3.22:** Kontrol grubunda biyokimyasal, mikrobiyolojik ve klinik bulguların birbirleriyle korelasyonu (Spearman korelasyonu)

		IL-1 $\beta$ (pg)/(60 s)	IL-10 (pg)/(60 s)	VEGF (pg)/(60 s)	MMP-8 (pg)/(60 s)	<i>Aa</i> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	<i>Td</i> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	<i>Pg</i> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	<i>Tf</i> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	<i>Fn</i> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )
<b>IL-1<math>\beta</math></b> (pg)/(60 s)	Kor. kats.	1.00	-0.205	-0.065	-0.094	-0.142	0.049	-0.167	-0.106	-0.246*
	P değeri		0.077	0.581	0.424	0.309	0.694	0.214	0.434	0.047
<b>IL-10</b> (pg)/(60 s)	Kor.kats.	-0.205	1.00	<b>0.623**</b>	<b>0.566**</b>	<b>0.437**</b>	<b>0.588**</b>	<b>0.522**</b>	<b>0.525**</b>	<b>0.480**</b>
	P değeri	0.077		0.00	0.00	0.001	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>VEGF</b> (pg)/(60 s)	Kor. kats.	-0.065	<b>0.623**</b>	1.00	<b>0.622**</b>	<b>0.446**</b>	<b>0.664**</b>	<b>0.599**</b>	<b>0.598**</b>	<b>0.422**</b>
	P değeri	0.581	0.00		0.00	0.001	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>MMP-8</b> (pg)/(60 s)	Kor. kats.	-0.094	<b>0.566**</b>	<b>0.622**</b>	1.00	<b>0.277*</b>	<b>0.429**</b>	<b>0.423**</b>	<b>0.420**</b>	<b>0.253*</b>
	P değeri	0.424	0.00	0.00		0.045	0.00	0.001	0.001	0.041
<b><i>Aa</i></b> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	Kor. kats.	-0.142	<b>0.437**</b>	<b>0.446**</b>	<b>0.277*</b>	1.00	<b>0.597**</b>	<b>0.933**</b>	<b>0.786**</b>	<b>0.943**</b>
	P değeri	0.309	0.001	0.001	0.045		0.00	0.00	0.00	0.00
<b><i>Td</i></b> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	Kor. kats.	0.049	<b>0.588**</b>	<b>0.664**</b>	<b>0.429**</b>	<b>0.597**</b>	1.00	<b>0.752**</b>	<b>0.752**</b>	<b>0.644**</b>
	P değeri	0.694	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00
<b><i>Pg</i></b> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	Kor. kats.	-0.167	<b>0.522**</b>	<b>0.599**</b>	<b>0.423**</b>	<b>0.933**</b>	<b>0.752**</b>	1.00	<b>0.908**</b>	<b>0.893**</b>
	P değeri	0.214	0.00	0.00	0.001	0.00	0.00		0.00	0.00
<b><i>Tf</i></b> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	Kor. kats.	-0.106	<b>0.525**</b>	<b>0.598**</b>	<b>0.420**</b>	<b>0.786**</b>	<b>0.752**</b>	<b>0.908**</b>	1.00	<b>0.831**</b>
	P değeri	0.434	0.00	0.00	0.001	0.00	0.00	0.00		0.00
<b><i>Fn</i></b> (2 <sup>-<math>\Delta\Delta</math>Ct</sup> )	Kor. kats.	<b>-0.246*</b>	<b>0.480**</b>	<b>0.422**</b>	<b>0.253*</b>	<b>0.943**</b>	<b>0.644**</b>	<b>0.893**</b>	<b>0.831**</b>	1.00
	P değeri	0.047	0.00	0.00	0.041	0.00	0.00	0.00	0.00	
<b>SCD</b> (mm)	Kor. kats.	<b>0.255*</b>	0.210	<b>0.422**</b>	<b>0.239*</b>	0.056	<b>0.465**</b>	0.170	0.163	-0.116
	P değeri	0.027	0.070	0.00	0.039	0.690	0.00	0.205	0.227	0.354
<b>KAS</b> (mm)	Kor. kats.	<b>0.237*</b>	0.174	<b>0.407**</b>	0.161	0.098	<b>0.430**</b>	0.229	0.198	-0.113
	P değeri	0.040	0.136	0.00	0.168	0.485	0.00	0.087	0.140	0.365
<b>Gİ</b>	Kor. kats.	<b>0.305**</b>	<b>0.279*</b>	<b>0.455**</b>	0.155	<b>0.316*</b>	<b>0.473**</b>	<b>0.425**</b>	<b>0.403**</b>	<b>0.213*</b>
	P değeri	0.008	0.015	0.00	0.184	0.021	0.00	0.001	0.002	0.086
<b>Pİ</b>	Kor. kats.	<b>0.355**</b>	<b>0.237*</b>	<b>0.349**</b>	<b>0.212*</b>	-0.229	0.181	-0.186	-0.064	<b>-0.340**</b>
	P değeri	0.002	0.040	0.002	0.067	0.100	0.145	0.167	0.638	0.005
<b>SKY</b> (%)	Kor. kats.	<b>0.367**</b>	0.034	<b>0.302**</b>	0.166	-0.056	<b>0.308*</b>	0.078	0.093	<b>-0.289*</b>
	P değeri	0.001	0.770	0.009	0.154	0.689	0.012	0.563	0.491	0.019

Kor. kats.: Korelasyon katsayısı, IL-1 $\beta$ : İnterlökin-1 beta, IL-10: İnterlökin-10, VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü, MMP-8: Matriks metalloproteinaz-8, *Aa*: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Td*: *Treponema denticola*, *Pg*: *Porphyromonas gingivalis*, *Tf*: *Tannerella forsythia*, *Fn*: *Fusobacterium nucleatum*, SCD: Sondalama cep derinliği, KAS: Klinik ataşman seviyesi, Gİ: Gingival indeks, Pİ: Plak indeks, SKY: Sondalamada kanama yüzdesi  
\*p<0.05, \*\* p<0.001

Çalışma gruplarında tedavi edilen  $\geq 5$  mm ceplere ait SCD ve KAS değerleri ile subgingival plak örneklerindeki *Td*, *Pg*, *Tf* seviyelerinde gerçekleşen kat değişim miktarlarının birbirleriyle olan korelasyonları Tablo 3.23'de gösterilmiştir. Hem test hem de kontrol grubunda *Aa* ve *Fn* seviyelerinde gerçekleşen kat değişim miktarları

ile  $\geq 5$  mm, tedavi edilen tüm ceplere ait SCD ve KAS değerleri arasında korelasyon saptanamadığı için Tablo 3.23’de *Aa* ve *Fn* gösterilmemiştir.

Çalışma gruplarında  $\geq 5$  mm, tedavi edilen tüm ceplere ait SCD ve KAS değerleri ile *Td*, *Pg*, *Tf* kat değişim miktarları arasındaki korelasyon değerlendirmesi sonuçlarına göre;

1. *Td* ile test ve kontrol gruplarındaki SCD ve KAS değerleri arasında pozitif yönde güçlü korelasyon

2. *Td*, *Pg* ve *Tf* ile test grubundaki ceplere ait SCD ve KAS değerleri arasında; ayrıca kontrol grubundaki KAS değerleri arasında pozitif yönde değişen güçte korelasyon (Bkz. Tablo 3.23).

**Tablo 3.23:** Çalışma gruplarında  $\geq 5$  mm tedavi edilen ceplere ait SCD ve KAS değerleri ile *Td*, *Pg*, *Tf* kat değişim miktarları arasındaki Spearman korelasyonu

			<i>Td</i> ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )	<i>Pg</i> ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )	<i>Tf</i> ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )
TEST GRUBU	SCD	Korelasyon katsayısı p değeri	<b>0.401**</b> 0.001	<b>0.326*</b> 0.016	<b>0.323*</b> 0.017
	KAS	Korelasyon katsayısı p değeri	<b>0.426**</b> 0.001	<b>0.316*</b> 0.020	<b>0.294*</b> 0.031
KONTROL GRUBU	SCD	Korelasyon katsayısı p değeri	<b>0.440**</b> 0.00	0.225 0.092	0.222 0.097
	KAS	Korelasyon katsayısı p değeri	<b>0.469**</b> 0.00	<b>0.291*</b> 0.028	<b>0.300*</b> 0.023

*Td*: *Treponema denticola*, *Pg*: *Porphyromonas gingivalis*, *Tf*: *Tannerella*, SCD: Sondalama cep derinliği, KAS: Klinik ataşman seviyesi  
\* $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Araştırma Yönteminin Tartışılması

Periodontitis, dişleri çevreleyen destek dokuların dental plak mikroorganizmalarına karşı oluşturdukları lokalize enflamatuvar reaksiyonlarla başlayıp cep oluşumu, dişeti çekilmesi, alveoler kemik kaybı ve diş kaybı ile sonuçlanabilen enfeksiyöz bir hastalıktır. Periodontitisin ana etiyolojisini MDP oluşturmaktadır.<sup>91</sup> Ana etiyolojik ajan ortamdaki uzaklaştırılmadıkça iltihabi cevap şiddetlenerek periodontal dokularda yıkım gerçekleşmektedir. Ortaya çıkan yanıtın miktarı bireyler arasında farklılık gösterebilmekte ve buna bağlı olarak periodontal hastalığın şiddeti de değişebilmektedir. Konağa ait faktörler, çevresel ve mikrobiyal faktörler arasındaki ilişkiye ve dengeye bağlı olarak hastalık gelişiminde farklılıklar oluşabilmektedir.<sup>25</sup>

KP'nin tedavisinde subgingival patojen mikrofloranın ortadan kaldırılması ve buna bağlı olarak konak ile mikroorganizma arasında, hastalık öncesi dengenin yeniden kurulması ve bu dengenin devamlılığı amaçlanır. Tüm periodontal tedavilerin başlangıç ve temel aşaması olan ve bir sonraki tedavi aşamalarının sağlıklı şekilde yapılabilmesi için zemin oluşturan CPT, periodontal tedavide altın standart kabul edilmektedir<sup>275</sup>. Etkili ve yeterli bir CPT ile cebin yumuşak doku duvarının iyileşmesi, cep derinliğinin azalması ve yeni ataşman oluşması sağlanır.<sup>1, 163, 275</sup> CPT'de ağız hijyen uygulamaları, DYT ve KYD işlemleri sayesinde periodontal tedavide başarılı sonuçlar elde edilebilmekte ve periodontal sağlık uzun süreler korunabilmektedir.<sup>275, 276</sup> Ancak başarıyla uygulanmış tedaviye rağmen özellikle derin ceplerde anaerobik olası periodontopajenlerden zengin subgingival plağı her zaman yeterince uzaklaştırmak mümkün olamamaktadır. El aletleriyle ulaşılması güç anatomik ve patolojik yapılar (furkasyon bölgeleri, yivler vb.), bireyin periodontal hastalığa yatkın olması gibi nedenlerden dolayı tek başına DYT ve KYD işlemleri yetersiz kalabilmektedir. Ayrıca cep içinde kalan olası periodontopatojenler yeniden kolonize olabilmekte ve hastalık tekrarlayabilmektedir.<sup>275</sup> Bu gibi durumlarda derin dokulara invaze olmuş mikroorganizmaları yok etmek, hastalığa sebep olan patojen mikroorganizmaların kolonizasyonunu geciktirmek, mekanik tedavinin etkinliğini arttırabilmek, konağın kemik kaybına direncini arttırmak, periodontal cerrahiye

duyulan gereksinimi azaltmak veya ortadan kaldırmak için KYD ile birlikte antimikrobiyal etkinlik gösteren ek tedavi yöntemleri uygulanmaktadır<sup>186</sup>. Hastaların periodontal klinik parametreleri üzerine olumlu etki yaptığı gösterilmiş çok sayıda çeşitli ek tedavi yöntemleri bulunmakta olup sistemik<sup>277-279</sup> ve lokal<sup>199, 280, 281</sup> antibiyotikler, lazerler<sup>218, 282</sup>, FDT<sup>223, 224</sup> ve ozon<sup>228, 230</sup> bunlardan sadece bir kaçıdır.<sup>191</sup> Ancak her tedavi yönteminde olduğu gibi bu yöntemlerin de maliyet, hekimin bilgi, becerisi ve deneyimine bağlı faktörler, yan etki oluşması ve hedef dokular dışında oluşabilecek zararlı etkiler gibi belirli dezavantajları bulunmaktadır.<sup>191</sup> Ayrıca CPT'ye ilave uygulanan bu yöntemlerden, istenilen klinik sonuçların elde edilmesini sağlayacak altın standart niteliğinde bir uygulama da yoktur. Bu nedenle günümüzde CPT'nin etkinliğini arttırmaya yönelik ilave yöntem arayışları devam etmektedir. CPT'nin etkinliğinin arttırılması ayrıca cerrahi periodontal tedavi gereksiniminin azaltılmasını da sağlayacaktır. Biz de çalışmamızda CPT'ye ilave yeni bir yöntem olarak kullanılabilen, çeşitli mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkinliği bulunan, hücre ve dokulardan çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin salınımını uyararak yara iyileşmesini hızlandırma kapasitesine sahip ABSP'nin etkilerini klinik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik açılardan araştırdık.

ABSP'ler antimikrobiyal etkinlikleri ve hücre-doku biyostimülasyonu oluşturma kapasiteleriyle tıp alanında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan yeni bir yöntemdir.<sup>3</sup> Isbary ve ark.<sup>258</sup> ilk olarak kronik enfekte yara üzerine standart yara tedavisine ilave olarak ABSP uyguladıkları randomize kontrollü faz 2 klinik çalışmada enfekte yara üzerine ABSP uygulamasının yara yüzeyindeki bakteriyel yükü önemli derecede azalttığını ve yara iyileşmesini hızlandırdığını göstermişlerdir. Isbary ve ark.'nın<sup>283</sup> yaptıkları başka bir çalışmada vücudun geniş yüzeyini kaplayan vezikülobüllöz lezyonlarla karakterize ailesel benign pemfigus hastalığının steroid içeren antibiyotik kremle tedavisine ilave olarak ABSP uygulanmış ve tedavi sonrası lezyonlarda iyileşme, kızarıklıkların ve kaşıntıların azaldığı gözlenmiştir. Tedavi sonrası derideki lipid kompozisyonun değişimi ve tedavi edilmiş deri yüzeyinin asitleşmesi iyileşmenin olası nedeni olarak gösterilmiştir. Brehmer ve ark.<sup>284</sup> yaptığı randomize klinik çalışmada kronik venöz yetmezliğe bağlı bacak ülserlerinin tedavisinde standardize edilmiş yara bakım uygulamasına ilave ABSP uygulamasının bacak ülserlerinde yara yüzeyinden bakteriyel yükü azaltarak yara iyileşmesini



hızlandırıldığını gösterirken Daeshlein ve ark.'nın<sup>285</sup> gönüllü denekler üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada deri üzerine antisepsi sağlamak amacıyla farklı ABSP cihazları ile yapılan uygulamanın denekler tarafından iyi tolere edildiğini, ağrı, ısınma ve parestezi gelişmediğini, derinin bariyer fonksiyonunda bozulma yapmadan ve deriyi kurutmadan antisepsi sağladığını, plazmanın klinikte kullanımının güvenilir olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çok sayıdaki in vitro<sup>248, 286-288</sup> ve in vivo<sup>248, 249, 270, 289-293</sup> çalışmalar ışığında ABSP'lerin ökaryot hücrelerde zarar oluşturmaksızın, mikroorganizmalar üzerinde seçici antimikrobiyal etki gösterdiği böylece ABSP'nin sterilizasyon ve dezenfeksiyon işlemlerinden başka antisepsi sağlanması amacıyla da kullanılabilmesi aynı zamanda çeşitli hücre sinyal yollarını etkileyerek ve dokularda biyostimülasyon yaparak yara iyileşmesini hızlandırmada kullanılabilmesi belirtilmiştir.<sup>3, 294</sup>

Tüm bu literatür bilgilerinden ilham alarak çalışmamızda cep içi dekontaminasyonun sağlanması ve CPT'nin etkinliğinin artırılması amacıyla CPT'ye ilave olarak cep içine ABSP uygulaması gerçekleştirdik. Nitekim çalışmamızda ilave ABSP uygulamasının hastaların klinik periodontal parametrelerine ek fayda sağladığı, subgingival mikrobiyal plak kompozisyonu üzerine sadece CPT uygulamasına göre daha iyi sonuçlar elde edildiği saptanmıştır. Yapılan literatür araştırmasında ABSP'nin periodontal hastalık tedavisi üzerine etkisini inceleyen klinik bir çalışmaya rastlanamamıştır. Çalışmamız periodontoloji alanında yapılmış, kronik periodontitisin tedavisinde ilave ABSP kullanımını klinik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik olarak inceleyen ilk çalışmadır.

Klinik bir araştırmada hasta seçim kriterleri çalışmadan beklenen sonuçlar üzerinde direkt etkisi olan önemli bir faktördür. KP'nin CPT'sinde plak kontrolü sağlandığında ve risk faktörleri kontrol altına alındığında konak lehine dönen hastalık sürecinde genellikle tedaviye olumlu cevap alınmaktadır.<sup>1, 275, 295</sup> Sistemik hastalıklar ve sigara gibi risk faktörleri ise periodontal hastalıklara karşı konak doku cevabını bozarak hastalığın şiddetini arttırmakta ve periodontal tedaviye cevabı etkilemektedir.<sup>296</sup> Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamıza sistemik olarak sağlıklı, ilaç kullanmayan ve sigara içmeyen KP'li bireyler dahil edilmiştir. Çalışmaya son 6 ay içerisinde herhangi bir periodontal tedavi görmemiş, subgingival periodontopatojen profilini değiştirebileceği için son 6 ayda herhangi bir antibiyotik kullanmamış olan

<sup>297</sup> hastalar dahil edildi. Ayrıca antienflamatuvar ilaç kullanımının konak immünoenflatuvar cevabı etkileyebileceğinden<sup>298</sup> son 3 ay içerisinde antienflamatuvar ilaç kullanmamış olan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Hastaların çalışmaya dahil edilmesinde tedavi sonuçlarını etkileyebilecek faktörlerden çevresel risk faktörlerinin standardize edilmesi görece kolay olsa da bireylerin periodontal tedaviye cevabında görülen farklılıkları standardize etmek oldukça güçtür. Oysaki MDP'ye karşı periodontal dokularda meydana gelen konak cevabı periodontal tedavi sonuçlarını etkileyebilecek çok önemli bir unsurdur.<sup>25</sup> Periodontal tedavinin sonuçlarını inceleyen çalışmalarda paralel ve split-mouth araştırma dizaynları tercih edilebilmektedir. Yapılan bir derlemede iki dizayn arasında veriler açısından bir farklılık olmamasına karşın paralel dizaynda hastaların yaş, cinsiyet ve özellikle konak cevabının standardizasyonunun split-mouth dizayna göre daha zor olmasından kaynaklı yazarlar split-mouth dizaynın daha uygulanabilir olduğunu vurgulamışlardır.<sup>299</sup> Ancak periodontal hastalığın tüm ağızda her bölgede eşit dağılıma sahip olamayabileceği göz önünde tutulması gereken bir unsurdur. Bireylerde periodontal hastalık karakterinin seçilecek çalışma gruplarında simetrik olması ve yeterli sayıda bölge olması koşulu sağlandığında split-mouth dizayn tedavi etkinliğini göstermede daha verimli bir yöntemdir.<sup>300</sup> Ayrıca split-mouth dizaynda paralel dizayna göre daha az hasta sayısı yeterli olabilmektedir.<sup>300</sup> Biz de çalışmamızda araştırma standardizasyonunun sağlanması, konağa bağlı faktörlerin eliminasyonu ve çalışmada gerekli hasta sayısının azaltılması için split-mouth araştırma dizaynını tercih ettik. Çalışma gruplarında tüm ağız klinik periodontal parametrelerin başlangıç durumuna baktığımızda araştırma grupları arasında hiçbir klinik periodontal parametrede farklılık görülmemiştir. Demografik olarak çalışma gruplarını incelediğimizde diş sayısının ve tedavi edilen bölgelerin test ve kontrol grubundaki dağılımlarının birbirlerine yakın olduğu ve çalışmamızda split-mouth araştırma dizaynı için gerekli kriterlerin sağlandığı görülmektedir.

Periodontitisin CPT'sinde uygulanan tedavi protokolleri çeşitlilik göstermektedir. CPT'de geleneksel tedavi protokolü, aşamalı olarak gerçekleştirilen DYT ve KYD işlemlerini içerirken hastaların seans sayısının azaltılması ve seanslar arasında oluşabilecek çapraz kontaminasyon riskini azaltmak amacıyla tüm ağız tedavi protokolü de uygulanabilmektedir.<sup>301</sup> Tedavi edilmeyen ceplerden tedavi edilen

cepilere mikroorganizma geçişi, yani çapraz enfeksiyon olabileceği bu nedenle tüm ağız tedavi protokolünün rekolonizasyonu önlemede daha başarılı olduğu belirtilmiştir.<sup>302</sup> Tüm ağız tedavi protokolünde de tek aşamalı tüm ağız dezenfeksiyonu ve tüm ağız KYD uygulamaları mevcuttur. Tek aşamalı tüm ağız dezenfeksiyonunda cep içinin ve tüm ağız kavitesinin klorheksidinle muamele edilmesi amaçlanmaktadır.<sup>301</sup> Quirynen ve ark. geleneksel, tek aşamalı tüm ağız dezenfeksiyonu ve tüm ağız KYD protokolünü karşılaştırdıkları çalışmanın sonucunda geleneksel tedavi protokolüne göre tüm ağız dezenfeksiyon ve “tüm ağız KYD protokolü” ile klinik parametrelerde daha fazla düzelme ve mikroorganizma profili açısından da daha iyi sonuçlar elde edildiğini göstermişlerdir. Ayrıca tüm ağız tedavi protokolleri arasında farklılık bulunmadığını, geleneksel tedaviye üstünlüğün klorheksidin kullanımına bağlı değil mekanik temizliğe bağlı olduğunu belirtmişlerdir.<sup>178</sup> Çalışmamızda seanslar arası muhtemel bir çapraz enfeksiyon ihtimalini minimalize etmek, hasta vizitlerini azaltmak ve örnekleme seanslarının düzenli takibi açısından kök yüzeyi düzleştirme işleminde ‘tüm ağız KYD’ protokolü uygulanmıştır. Çalışmamızda ABSP kullanımının etkinliğini objektif şekilde değerlendirebilmek amacıyla cep içi irrigasyonu olarak antimikrobiyal etkinliği olmayan serum fizyolojik kullanılmıştır.

Araştırma yönteminde, tedavi sonuçlarının değerlendirildiği zaman aralıkları araştırmadan elde edilen sonuçları etkileyebilen önemli bir unsurdur. Periodontal dokularda iyileşmenin CPT’den sonraki 9 aya kadar devam ettiği gösterilmişse de<sup>303</sup> iyileşmenin büyük bir bölümü ilk 3 aylık dönem içinde gerçekleşmektedir.<sup>304</sup> Tedavi sonrası 1. haftada cep derinliğinde meydana gelen sığılaşmanın diş eti çekilmesiyle meydana geldiği, sonraki 3 haftalık zaman diliminde meydana gelen sığılaşmanın ise klinik ataşman seviyesindeki artışla ilgili olduğu belirtilmiştir.<sup>305</sup> CPT sonrası başlangıç yanıtının değerlendirildiği en uygun zaman aralığı 4-6 hafta olarak belirtilmektedir.<sup>295</sup> Bu nedenle biz de çalışmamızın sonuçlarını değerlendirmek için ilk kontrolü CPT sonrası 1. ayda yaptık. CPT sonrası 3. ayda ise dentin tübülleri ve diş etine invaze olan olası periodontopajenlerin cep içinde tekrar kolonize olduğu bilinmektedir.<sup>275, 306-308</sup> Bununla birlikte Sbordone ve ark.<sup>309</sup> CPT ile gerçekleştirilen mekanik debridmandan 2 ay sonra periodontopajenlerin tekrar cep içinde kolonize olduğunu ve subgingival floranın tedaviden önceki kompozisyon ve seviyelerine

dönme eğiliminde olduğunu da bildirmiştir. Biz de çalışmamızda CPT ile elde edilen sonuçları değerlendirmemizi etkileyecek bütün bu faktörleri göz önüne alarak CPT'ye ilave ABSP uygulaması sonrası klinik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik değerlendirmeleri tedavi sonrası 1. ay ve 3. ayda gerçekleştirdik.

Klinik bir araştırma tasarlanırken araştırmacıların yanlılığı (bias) önleyecek tedbirleri alması, bu sayede çalışmanın gücü ve güvenilirliğinin artırılması klinik çalışmalarda önem arz etmektedir. Yanlılık, isteyerek veya istemeden gerçekleştirilen ve çalışma sonuçlarını bir tarafa doğru yönlendiren ve karşılaştırmaları bozan yaklaşımlar olarak tanımlanır.<sup>310</sup> Yanlılığı önlemek için randomizasyon ve körleme gibi teknikler kullanılmaktadır. Tedavi sonuçlarını değerlendiren araştırmacının, tedavi uygulayan hekimin hangi bölgeyi test grubu olarak seçtiğini bilmesi araştırma sonuçlarına etki edebilecek olası yanlılık durumlarının ortaya çıkmasına neden olmakta ve bu durum araştırmanın güvenilirliğini zayıflatmaktadır.<sup>310</sup> Bu nedenle çalışmamızda ölçme yanlılığını ortadan kaldırmak için tedavi sonuçları tedaviyi uygulayan hekimden farklı olarak başka bir hekim tarafından değerlendirilmiş ve çalışmanın körlenmesi sağlanmıştır. Ayrıca randomizasyon işlemi tüm ağız KYD işleminden sonra yapılmış, hastalar split mouth dizaynda test ve kontrol gruplarına ayrılmıştır. Böylece tedaviyi uygulayan hekimin performansta yanlılık uygulaması önlenmeye çalışılmıştır.

Kişinin kendi üzerinde bir deney yapıldığından haberdar olmasının, kişiyi çalışmanın sonuçlarını değiştirebilecek davranış tarzı geliştirmeye yöneltmesine Hawthorne etkisi denilmektedir.<sup>310</sup> Hastaların ABSP yapılan bölgelere uygulayacakları ağız hijyen davranışlarında değişikliğe ve tedavi sonuç algılarının değişmesine neden olabileceğinden, yapılan tedavinin farkındalığını azaltmak, Hawthorne etkisini minimize etmek ve hastaların da çalışmada körlenmesi amacıyla kontrol bölgelerine plasebo olarak ABSP uygulaması yapılmıştır.

## 5.2. Klinik Bulguların Tartışılması

Çalışmamızda hastaların ağız bakımlarını, periodontal durumlarını ve yapılan tedavinin etkinliğini, tedavi öncesi ve sonrası 1. ve 3. ayda klinik parametrelerdeki değişimi objektif şekilde değerlendirebilmek amacı ile Gİ<sup>272</sup>, Pİ<sup>271</sup>, DKİ<sup>273</sup>, SCD ve KAS ölçülerek kaydedildi. Kullanılan bu indeksler yaygın olarak kullanılmaları ve diğer çalışmalar ile karşılaştırma olanağı vermesinden dolayı tercih edildi.

### 5.2.1. Pİ, Gİ ve SKY bulgularının tartışılması

MDP periodontal hastalıkların etiyolojisinde birinci derecede etkin olan faktördür. Supragingival plak, subgingival plak oluşumunu ve gelişimini desteklemesi ve rekolonizasyona katkıda bulunması nedeniyle periodontal hastalığın etiyolojisinde önemli bir yere sahiptir.<sup>295</sup> Tezal ve ark.<sup>166</sup> yaptıkları çalışmada supragingival plak miktarının subgingival bakteri miktarını arttırdığı ve kompozisyonunu değiştirdiğini göstermişlerdir. Supragingival plağın CPT'nin sonuçlarını etkilemesinden ötürü hastaların ağız hijyen motivasyonunun yüksek tutulması CPT'de başarıyı arttıran bir faktördür.<sup>275</sup> Çalışmamızda hastaların tedavi öncesi ve sonrası ağız hijyen seviyeleri ve supragingival plak miktarı Silness ve Loe'nün Pİ'si<sup>271</sup> ile değerlendirilmiştir. Araştırmamızın sonuçlarına baktığımızda Pİ değerlerini örnekleme zamanları arasında karşılaştırdığımızda, test ve kontrol grubunda, başlangıca göre tedavi süresince istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edilmiştir. Grup içi değerlendirmede, Pİ'de gerçekleşen bu azalmanın çalışma süresince de devam ettiği gözlenmiştir. CPT yapılan ve ağız hijyen eğitimi verilen hastalarda ağız hijyenini sağlamada başarılı olduğu 1. ve 3. aydaki Pİ değerlerindeki azalma ile görülmektedir. Ayrıca örnekleme zamanları arasındaki Pİ değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında hem başlangıçta hem de örnekleme periyotlarında, gruplar arası anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Çalışmamız split-mouth araştırma dizaynı olduğundan hastaların çenenin her iki bölgesine de iyi bir ağız hijyen uygulaması yapması önemlidir. Bulduğumuz sonuçlarda hastaların test ve kontrol bölgesindeki Pİ miktarlarının eşit olması hastaların çenenin her iki bölgesine de iyi ağız hijyen uygulaması yaptığını

göstermektedir. Pİ değerlerinin test ve kontrol gruplarında birbirine yakın olması ayrıca tedavi protokolleri arasındaki olası etkinlik farkının ortaya çıkarılmasında da önemlidir. Böylelikle çalışmamızda, ağız hijyen uygulamalarında oluşabilecek farklılıktan dolayı sonuçların etkilenme olasılığının ortadan kalktığı söylenebilir.

Ximenez-Fyvie ve ark.<sup>311</sup> KP'li hastalara CPT sonrası 3 ay boyunca her hafta profesyonel supragingival plak temizliği yaptıkları çalışmada profesyonel plak temizliğinin hem supragingival hem de subgingival plakta test edilen 40 bakteri türünde miktar ve tespit oranı olarak anlamlı azalma tespit etmişlerdir. Haffajee ve ark.<sup>312</sup> ise CPT sonrası tekrarlayan profesyonel plak temizliğinin klinik parametrelerde iyileşme ve subgingival MDP bakteri sayısında azalma sağladığını göstermekle birlikte ağız hijyen motivasyonu yüksek, supragingival plak miktarı düşük bireylerde be benzer sonuçları bulduklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda subgingival mikroorganizma profilini ve miktarını değiştirebileceği ve tedavi sonuçlarını etkileyebileceği için hastalara seanslar arasında supragingival plak temizliği yapılmamış ancak ağız hijyen motivasyonunda azalma gözlenen hastalara ağız hijyen motivasyonu tekrarlanmıştır.

Araştırmamızda diş eti sağlığı ve enflamasyon varlığının klinik olarak değerlendirilmesinde Løe ve Silness'in GI'si<sup>272</sup> ve Ainamo'nun DKİ'si<sup>273</sup> kullanılmıştır. DKİ, diş etinin iltihabi değişikliklerinin ve gözle doğrudan muayenenin mümkün olmadığı periodontal cep tabanındaki iltihabi lezyonun varlığının objektif olarak belirlenmesinde kullanılan bir indekstir.<sup>273</sup> Periodontal sulkusta çok hafif bir mekanik stimülasyon (0.25 N) ile kanama meydana gelmesi birleşim epiteli ve bağ dokusundaki mevcut iltihabı ve cep duvarındaki ülserasyonu gösteren önemli bir bulgudur.<sup>275</sup> Etkili bir CPT sonrası SKY'de %50'lere varan azalma sağlandığı rapor edilmektedir.<sup>313</sup> Nitekim araştırmamızda, grup içi değerlendirmede test ve kontrol gruplarında başlangıca göre 1. ve 3. aylarda SKY'de istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildiği görülmektedir. (Bkz. Tablo 3.2. Test grubunda başangıç, 1. ay ve 3. ay SKY değerleri: %75.63, %9.48 ve %8.46; kontrol grubunda başangıç, 1. ay ve 3. ay SKY değerleri: %80.09, %13.43 ve %14.58). SKY'de her iki grupta da başlangıca göre gerçekleşen azalma CPT sonucunda cep epiteli ve bağ dokusundaki iltihabın ortadan kalkması ile cep tabanı ve cep duvarında gerçekleşen iyileşmeyi göstermektedir.

Gruplar arası karşılaştırmada, tüm ağız, 5 mm ve üzeri periodontal cep bulunan dişlere ait ve örnek toplanan dişlerdeki SKY’de, 1. ve 3. aylarda test grubunda, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı, daha düşük SKY değerleri gözlenmektedir. Bu durum bize CPT’ye ilave cep içerisine ABSP uygulamasının cep tabanındaki iyileşme süreci üzerine etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Periodonsiyumun sağlıklı olduğu koşullarda birleşim epitelinin kendini onarması 6 günde gerçekleşirken, epitelyal ataşman oluşumu 1- 2 hafta arasında gerçekleşmektedir.<sup>275</sup> Periodontal cep içerisinde subgingival plak varlığı ve konağın immün cevabı ise periodontal yara iyileşmesi sürecini etkileyen en önemli etkenlerdir.<sup>275</sup> ABSP’lerin bakteri, mantar, virüs gibi çeşitli mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkide bulunduğu ve hücre-doku biyostimülasyonu sağlayarak yara iyileşmesini hızlandırdığı bilinmektedir.<sup>3</sup> CPT’ye ilave ABSP uygulamasının periodonsiyumdaki yara iyileşme sürecini hem subgingival mikroflora üzerindeki etkinliğiyle hem de hücre/ doku biyostimülasyonu sayesinde olumlu yönde etkilemiş olabileceğini düşünmekteyiz.

Isbary ve ark.<sup>258</sup> kronik enfekte yara üzerine ABSP uygulamasının yara yüzeyindeki mikrobiyal yükü azalttığını ve yara iyileşmesini hızlandırdığını gösterirken, Ermolaeva ve ark.<sup>248</sup> da ratların derisinde oluşturdukları yarayı bakteriyel süspansiyonla enfekte etmelerinin ardından yara yüzeyine ABSP uyguladıkları çalışmanın sonucunda yara yüzeyinden bakteriyel yükün azaltılmasında ve yaranın epitelizasyonu ve kapanmasında ABSP’nin etkin olduğunu göstermişlerdir. Nitekim çalışmamızda da CPT’ye ilave ABSP kullanımının periodonsiyumdaki yara iyileşmesi üzerine olumlu etkisi bulunduğunu çalışma gruplarında plak skorlarının eşit olmasına rağmen SKY’de gerçekleştirdiği azalma sayesinde görebilmekteyiz. Ayrıca çalışmamızın mikrobiyolojik bulguları da CPT’ye ilave ABSP uygulamasının, kontrol grubuna kıyasla cep içinde dekontaminasyon sağladığını göstermektedir. Bununla birlikte çalışmamızın sonuçlarında test grubunda *Td*, *Tf* ve *Pg* kat değişim miktarları ile örnek alınan dişlere ait SKY arasında pozitif yönde korelasyon bulunmuştur. Periodontal hastalıkta *Td*, *Tf* ve *Pg*’nin periodontal cep içerisinde varlığının SKY ile yakın ilişkide bulunduğu literatür bilgisinden<sup>47</sup> de yola çıkarak ABSP’nin subgingival cep içerisinde belirli olası periodontopatojenler üzerine antimikrobiyal etkinlik gösterdiği; bu sayede periodontal cebin iyileşmesi için gerekli uygun çevrenin elde

edilmesini sağladığı; kontrol grubuna kıyaslandığında rekolonizasyonu geciktirerek yara iyileşmesi sürecini desteklediğini düşünmekteyiz.

ABSP'nin antimikrobiyal etkinliği dışında frekans, güç ve süreye bağlı olarak biyostimülasyon ve koagülasyon etkinliği de bulunmaktadır.<sup>3</sup> Nakajima ve ark.<sup>270</sup> farelerde oluşturdukları enfekte olmayan akut, kutanöz yara üzerine ABSP uygulamasının yara iyileşmesini hızlı epitelizasyon ve yara kontraksiyonu sağlayarak ve enflamasyonun geç fazına etki ederek hızlandırdığını histolojik-histomorfometrik olarak göstermişlerdir. Dobrynin ve ark.<sup>265</sup> ise domuz derisinde oluşturdukları açık yara üzerine uyguladıkları ABSP'nin uygulama dozu ve süresine bağlı olarak pıhtı organizasyonu veya koagülasyon sağladığını göstermiştir. ABSP ile üretilen ROT'ların farklı hücre sinyal yollarını etkileyerek çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin salınımını uyardığı ayrıca nitrik oksit konsantrasyonu artışına yol açarak rejenerasyon sağlandığı belirtilmektedir.<sup>3</sup> Çalışmamızda SKY değerlerinin test grubunda 1. ve 3. ayda daha iyi çıkması ABSP'nin yara iyileşme süreci ve süresi üzerine katkı sağlayarak CPT'nin etkinliğini arttırmış olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte ABSP'nin VEGF gen ekspresyonunda artışa ve anjiogenezise yol açtığı bunun da yara iyileşmesi süresine ve sürecine katkı sağlayacağı bildirilmiştir.<sup>314</sup> Çalışmamızın biyokimyasal bulgularına baktığımızda DOS total VEGF seviyelerinde gruplar arasında farklılık görülmemekle birlikte ABSP'nin VEGF üretimini stimüle etmiş olabileceği ve bu sayede yara iyileşme sürecini etkilemiş olabileceğini de düşünmekteyiz.

Çalışmamızda diş etindeki mevcut iltihabi durumu ortaya koymak için klinik değerlendirmede Løe ve Silness'in Gİ'si<sup>272</sup> kullanılmıştır. Gİ'de diş etinin görüntüsü, kıvamı ve rengindeki değişiklikler ve iltihabı yansıtan kanama durumu tespit edilebilmektedir.<sup>272</sup> CPT sonrası, cep epiteli ve diş eti bağ dokusundaki iltihabın ortadan kaldırılması, kan damarlarının yeniden organize olması ve iltihaplı diş eti dokusunun büzülerek diş yüzeyine sıkı adaptasyonu ile Gİ'de azalma meydana gelmektedir.<sup>315</sup> CPT sonuçlarını inceleyen çok sayıda çalışmada tedavi sonrası Gİ değerlerinde azalma sağlandığı gösterilmiştir.<sup>218, 225, 295, 308, 313</sup> Nitekim çalışmamızın sonuçlarına baktığımızda Gİ değerlerinin başlangıca göre 1. ve 3. ayda istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı; buradan her iki grupta da gerçekleştirilen tedavi yönteminin Gİ'yi azaltmada başarılı olduğu görülmektedir. Ancak gruplar arası



karşılaştırmada tüm ağız ve örnek toplanan dişlerde 3. ayda ayrıca 5 mm ve üzeri tedavi edilen dişlerde 1. ve 3. aylarda test grubunda istatistiksel olarak anlamlı, daha düşük Gİ değerleri saptanmıştır. Bu sonuçlar da bize CPT'ye ilave ABSP uygulamasının diş etindeki ödem ve enflamasyonun çözülmesinde, diş etinin dişe sıkı adaptasyon sağlamasında ve dolayısıyla Gİ değerlerinin azaltılmasında ek fayda sağladığını düşündürmektedir.

ABSP'nin fibroblast ve keratinositlerin stimülasyonu, anjiogenesis, kontraksiyon ve koagülasyon sağlayarak yara iyileşmesine katkıda bulunduğu bilinmektedir<sup>316</sup>. Haertel ve ark.<sup>317</sup> yaptıkları in vitro çalışmada, ABSP uygulamasının fibroblast migrasyonunu arttırdığı ve yara iyileşmesi sürecinde hücresel iletişimi sağlayan integrinleri aktive ettiğini göstermişlerdir. Yara iyileşmesi sürecinde, enflamasyon çözülüp proliferasyon fazına geçildiğinde çeşitli sitokin ve büyüme faktörleri açığa çıkmakta; açığa çıkan bu mediyatörler de yara iyileşme sürecini yönlendirmektedir. Plazmanın çeşitli büyüme faktörlerinin salınımını uyardığı birçok çalışmada gösterilmiştir.<sup>270, 317-320</sup> ABSP ile üretilen reaktif türler ABSP'nin antimikrobiyal ve biyostimülasyon etkilerinden sorumlu tutulmaktadır.<sup>3</sup> Kalghatgi ve ark.<sup>320</sup> yaptıkları in vitro çalışmada plazma ile üretilen ROT'ların fibroblast büyüme faktörü salınımını uyarmasıyla endotel hücre proliferasyonunu aktif hale getirdiğini göstermiştir. Çalışmamızda kontrol grubu ile test grubu arasında VEGF seviyeleri açısından istatistiksel bir farklılık olmamakla ABSP'nin VEGF gibi çeşitli büyüme faktörlerinin salınımını uyararak yara iyileşmesi sürecine destek sağladığını düşünmekteyiz.

ABSP ürünlerinden kısa ömürlü olanların derin dokulara ilerleyemeden ortamdaki oksijen ve diğer radikallerle reaksiyona girerek nötralize olduğu, uzun ömürlü nötrallerin (nitrik oksit ve ozon gibi) derin dokulara penetre olabildiği bilinmektedir.<sup>3</sup> Nitrik oksidin vazodilatasyon ve mikrosirkülasyonu normalize edici etkisi, peroksinitrit oluşumu ile direkt bakterisit etkisi, nötrofil ve makrofajları uyararak bakterilerin ve nekrotik artıkların fagositozunu arttırması, immün savunmasını düzenlemesi, kollajen sentezi, keratinosit ve fibroblast proliferasyonunu uyarıcı etkileri dokularda yara iyileşme sürecini destekleyici önemli role sahiptir.<sup>268</sup> Periodontitiste kronik enflamasyona konak cevabı olarak damarlanma artmış, damar çeperinde hyalin materyal üretiminin artması ve bazal membranda çökmesi sonucu

mikrosirkülasyon bozulmuştur.<sup>321</sup> CPT'ye ilave ABSP uygulamasının periodonsiyumda mikrosirkülasyonun normalizasyonuna katkısı olabileceğini ve bu sayede kontrol grubuna kıyasla daha düşük Gİ değerleri elde edildiğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte çalışmamızda, Gİ değerlerinde test grubunun lehine; daha iyi sonuçlar elde edilmesi ABSP'nin biyostimulasyon etkisi ile konak cevabını uyarılmış veya modifiye etmiş olabileceği gibi antimikrobiyal subgingival florayı baskılayarak hastalıklı periodontal dokuların iyileşme potansiyeline katkıda bulunması ile de açıklanabilir. Çalışmamızın SKY sonuçlarını tartışırken de belirttiğimiz üzere ABSP'nin mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkinliği ve rekolonizasyonu geciktirmesi sayesinde periodontal dokuların iyileşmesi için uygun ortamın oluşturulmasında katkısı olabileceğini; bu sayede Gİ değerlerinde test grubunun lehine daha iyi sonuçlar elde edildiğini düşünmekteyiz. Kırmızı kompleks bakterilerin çeşitli proteazlar üreterek periodontal dokularda yıkım oluşturduğu; özellikle bağ dokusu ve kollajenin parçalanmasında önemli etkileri bulunduğu bilinmektedir.<sup>47, 165</sup> Nitekim örnek alınan dişlere ait Gİ değerleri ile test grubunda *Td*, *Pg* arasında; kontrol grubunda ise *Td*, *If*, *Pg* arasında pozitif yönde güçlü korelasyon bulunması ABSP'nin antimikrobiyal etkinliği sayesinde periodonsiyumun iyileşme sürecine katkı sağladığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda tüm ağız Gİ değerlerinde test grubunda 1. aya göre 3. ayda istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma, kontrol grubunda ise istatistiksel anlam taşımamakla birlikte hafif bir artış görülmektedir. Tüm ağız Gİ değerlerini gruplar arası karşılaştırdığımızda şaşırtıcı biçimde 1. ayda kontrol grubuna kıyasla test grubunda Gİ değerlerinin yüksek olduğu, 3. ayda ise tam tersi gözlenmiş olup her iki zamanda da gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çalışma gruplarındaki tüm dişlerden elde edilen Gİ değerlerinde ortaya çıkan bu farklılığın periodontal cep bulunmayan dişlerden kaynaklanabileceğini ve tüm ağız Gİ sonuçlarının ABSP'nin Gİ üzerindeki etkisini maskeleyiş olabileceğini düşünmekteyiz.

### 5.2.2. SCD ve KAS bulgularının tartışılması

Klinikte hastalık teşhisi ve tedavinin etkinliğini SCD ve KAS'ı belirleyerek gerçekleştirebilmekteyiz. SCD ve KAS periodontal hastalığın meydana getirdiği

yıkım miktarını belirlemede ve tedavi sonuçlarını değerlendirmede kullanılan önemli klinik parametrelerdir. Periodontal tedavi sonucunda SCD miktarının hastanın plak kontrolünü sağlayabileceği ve tedavinin idamesinin gerçekleştirilebileceği ölçülerde olması istenmektedir.<sup>313</sup> Etkili bir CPT sonrası SCD’de azalma enflamasyonun çözülmesini takiben diş etinde gerçekleşen büzülme sonucu serbest diş eti kenarı seviyesinin apikal yönde yer değiştirmesi yanı sıra epitelyal ataşman kazancına da bağlı olarak gerçekleşmektedir. Bu nedenle SCD ile elde edilen bulguların KAS ile birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir.<sup>275, 295</sup> CPT sonrası uzun bağlantı epiteli ve diş etindeki sıkılaşma ile birlikte SCD’de azalma ve KAS’da kazanç sağlandığı ve iyi ağız hijyen uygulamaları sayesinde periodontal sağlığın idame edilebildiği çok sayıda araştırmada gösterilmiştir.<sup>177, 278, 295, 302, 306</sup> Nitekim çalışmamızın sonuçlarına baktığımızda hem test hem de kontrol grubunda, SCD ve KAS’da başlangıca göre 1. ve 3. aylarda istatistiksel olarak da anlamlı azalma olduğu görülmektedir.

CPT’nin etkinliğinin başlangıç SCD’ye bağlı olduğu, en fazla KAS kazancının derin ceplerde daha sonra orta derin ceplerde gerçekleştiği çok sayıda araştırmacı tarafından bildirilmiştir.<sup>275, 295, 313, 322</sup> Nitekim çalışmamızda 7 mm ve üzeri başlangıç SCD’ye sahip derin ceplerde, 5-6 mm başlangıç SCD’ye sahip orta derin ceplerden daha fazla KAS değişimi elde edilmiştir (KAS’da başlangıca göre 3. ayda ortaya çıkan değişim miktarı ortalama  $\pm$  standart sapma değerleri derin ceplerde test grubunda  $3.91 \pm 1.19$ , kontrol grubunda  $3.40 \pm 1.47$  iken orta derin ceplerde test grubunda  $2.45 \pm 1.00$ , kontrol grubunda  $2.40 \pm 1.03$ ’dır). Araştırmamızda çalışma gruplarında uygulanan tedavilerin SCD ve KAS üzerine her iki grupta da etkin olduğu, CPT’nin klinik parametrelerde düzelme sağladığı görülmektedir. CPT’den sonra klinik periodontal parametrelerdeki iyileşme üzerinde hastaların aktif tedavi sürecinde ağız bakım motivasyonlarının yüksek seviyede tutulması da etkili olmuştur. Nitekim örnek alınan dişlere ait Pİ değerleri ile diğer tüm klinik parametreler arasında pozitif yönde güçlü korelasyon bulunduğu da bulgularımızda görülmektedir.

Çalışmamızda elde edilen başlangıç, 1. ve 3. ay SCD ve KAS değerlerinde, test ve kontrol grupları arasında istatistiksel bir farklılık bulunmadığı görülmektedir. Etkili bir CPT sonrası SCD’de azalma ve KAS’da kazancın en fazla CPT’den sonraki 1 ila 3. ayda gerçekleştiği bildirilmektedir.<sup>275</sup> Çalışmamızda gruplar arasında istatistiksel farklılık gözlenememesi etkili bir CPT sonrası cep içerisindeki biyofilm bozulması ve

tek başına CPT'nin tedaviden sonraki ilk 3 ayda oldukça etkin olması nedeniyle sonuçlarda CPT'ye ilave ABSP uygulamasının etkinliği maskelenmiş olabilir. Oysa ki tedavi gruplarında SCD ve KAS değerlerinde 1. ila 3. ay arasında sadece test grubunda istatistiksel farklılık saptanması, sadece CPT uygulaması ile olası periodontopatojenlerin tam olarak eliminasyonunun sağlanamaması, CPT'den hemen sonra ve tek sefer uygulanmış ABSP'nin ise olası periodontopatojenler üzerinde etkili olmuş olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte test grubunda, 1. ayda herhangi bir ilave uygulama yapmadan 1 ila 3. ay arasında ortaya çıkan bu farklılığın ABSP'nin rekolonizasyonu geciktirmiş olabileceğini de düşündürmektedir. Gruplar arasında istatistiksel farklılığın görülememesinin bir diğer nedeni ise klinik periodontal parametrelerdeki ortalama değerlerinin gösterilmiş olması olabilir. Ortalama değerleri çalışma popülasyonu içerisinde meydana gelen değişikliklerle ilgili değerli özet istatistikler olmasıyla birlikte, farklı bölgelerde eş zamanlı meydana gelen ataşman kayıp ve/veya kazançlarını göstermede düşük etkinliğe sahip olması olabilir. Periodontal tedavinin sonuçları ortalama değerleriyle gösterildiğinde bu değerlerin kendi doğal yapısından kaynaklı tedavi etkinliğini göstermede yetersiz kalabilmektedir. Şöyle ki tedavi edilen ceplere ait SCD veya KAS'da her iki yönde de büyük değişimler meydana gelmiş olabilir ancak bu değişimlerin ortalama üzerine çok az etkisi bulunabilir. Bu nedenle SCD ve KAS'da meydana gelen değişim miktarlarına bakarak yapılan tedavilerin etkinliğini yorumlamak daha uygun gözükmektedir.<sup>323</sup>

Çalışma gruplarında örnekleme zamanları arasında gerçekleşen SCD ve KAS değişim miktarlarını gruplar arası karşılaştırdığımızda, 5 mm ve üzeri periodontal ceplerde, 1. aydan 3. aya gerçekleşen SCD değişim miktarının ayrıca başlangıçtan 3. aya ve 1. aydan 3. aya gerçekleşen KAS değişim miktarının test grubunda istatistiksel olarak daha fazla olduğu görülmektedir. Hastalık şiddeti açısından sınıflayarak değişim miktarlarına baktığımızda, 5-6 mm orta derin ceplerde SCD'nin 1. aydan 3. aya kontrol grubunda stabil kalırken test grubunda azalmaya devam ettiği, KAS açısından ise 1. aydan 3. aya kontrol grubunda klinik ataşman kaybı gözlenirken test grubunda klinik ataşman kazancının devam ettiği görülmektedir. Derin ceplerde ise SCD değişim miktarlarında, gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık gözlenmezken başlangıçtan 3. aya ve 1. aydan 3. aya gerçekleşen KAS değişim

miktarının test grubunda istatistiksel olarak daha fazla olduğu; derin ceplerde test grubunda KAS'da kazancın çalışma boyunca devam ettiği gözlenirken kontrol grubunda 1. ay ile 3. ay arasında KAS'da kayıp yaşandığı görülmektedir. Buradan CPT'ye ilave ABSP uygulamasının özellikle derin periodontal ceplerde ulaşılamamış MDP üzerinde etkin olduğunu, olası periodontopatojenlerin rekolonizasyonunu geciktirdiğini ve periodonsiyumun iyileşme potansiyelini arttırdığını düşünmekteyiz.

ABSP'lerin antimikrobiyal etkinliği *in vitro*<sup>247, 250, 251</sup> ve *in vivo*<sup>258, 291, 324</sup> çok sayıda çalışmada gösterilmiştir. Rupf ve ark.'nın<sup>247</sup> diş çürüklerinde ABSP kullanımının etkinliğini araştırdığı çalışmada ABSP jetinin dentin yüzeyindeki total bakteri yükünü  $10^3$  ila  $10^4$  kat azalttığı, ABSP'nin diş yüzeylerinin dezenfeksiyonunda kullanılabilceği belirtilmiştir. Jiang ve ark.<sup>325</sup> ise dental sonda ile kök kanal dezenfeksiyonu üzerine ABSP jetinin etkinliğini inceledikleri çalışmada diş yüzeylerinden biyofilmin uzaklaştırılması için yaptıkları 5 dakikalık uygulamada ABSP'nin biyofilmin yüzeyel tabakalarında etkin olduğu ancak alt bölgelere yeterince ulaşamadığını ve homojen bir tedavi sağlanamadığını bildirmiştir. Buna karşılık Xiong ve ark.<sup>250</sup> ABSP jetinin *in vitro* şartlarda oluşturulan 15 µm kalınlığındaki *Pg* biyofilminin derin katmanlarına kadar ulaştığını göstermiş, ABSP'nin antimikrobiyal etkinliğinden nötral partikülleri sorumlu tutmuşlardır. Biyofilmin en dış yüzeyinin negatif yüklü olmasından dolayı O ve OH gibi nötral partiküllerin biyofilmin derin katmanlarına rahatlıkla difüze olabildiğini ve bakterilerin membranına bağlanarak hasar oluşturduğunu bildirmişlerdir.<sup>250</sup> Shi ve ark.<sup>324</sup> ise köpekler üzerinde yaptığı periimplantitis tedavisinde mekanik tedavi sonrası klorheksidinle yapılan irrigasyona ilave ABSP uygulamasının etkisini değerlendirdiği çalışmada ilave ABSP uygulamasının sadece klorheksidinle yapılan irrigasyona göre 3. ayda daha iyi klinik ve mikrobiyolojik sonuçlar verdiğini göstermiştir. Çalışmamızda mekanik olarak yapıları bozulmuş subgingival biyofilm üzerine ABSP uygulamasının antimikrobiyal etkinliği değerlendirildi ve kontrol grubunda antimikrobiyal etkinliği bulunmayan serum fizyolojik kullanıldı. Literatürde ABSP'nin antimikrobiyal etkinliğini farklı antimikrobiyal ajanlar ile kıyaslayan çok sayıda çalışma da bulunmaktadır.<sup>256, 283, 286, 324</sup> Schaudinn ve ark.<sup>326</sup> çekilmiş diş kök kanallarındaki biyofilm üzerine ABSP iğnesini, %6'lık sodyum hipokloritle karşılaştırmış ABSP uygulamasının biyofilm üzerinde etkin olduğunu ancak %6'lık hipokloritten daha iyi olmadığını

bildirmişlerdir. Buna karşılık Koban ve ark.<sup>256</sup> yaptıkları in vitro çalışmada *Streptococcus mutans* biyofilmi üzerine ABSP uygulamasının, klorheksidine kıyasla daha fazla antimikrobiyal etki oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda el aletleriyle ulaşılması güç derin ceplerde elimine edilemeyen olası periodontopatojenler üzerine ABSP uygulamasının, daha fazla mikroorganizma inaktivasyonu sağlayacağı, bu sayede rekolonizasyonu geciktireceği ve böylece CPT'nin etkinliğinin arttırılabileceği ve klinik periodontal parametrelerde iyileşmeye katkı sağlayabileceği hipotezinden yola çıkmıştık. Nitekim araştırmamızın klinik bulgularına baktığımızda CPT'ye ilave ABSP uygulaması ile orta derinlikli ve derin ceplerde daha fazla SCD azalması ve KAS'da kazanç sağlandığı görülmektedir. Bununla birlikte ABSP ile yapılmış in vitro ve in vivo çalışmalardan yaptığımız çıkarımla CPT'ye ilave ABSP uygulamasının daha fazla olası periodontopatojen eliminasyonu sağladığı, periodontal dokuların iyileşme sürecine katkıda bulunduğu, epitelyal ataşmanın tekrar kök yüzeyine tutunabilmesi için daha uygun bir ortam oluşturarak rekolonizasyonu geciktirdiği düşünmekteyiz.

Çalışmamızın olası periodontopatojenler ile örnek alınan ve tedavi edilen  $\geq 5$  mm dişlere ait SCD ve KAS değerleri arasındaki korelasyon sonuçlarını incelediğimizde (Bkz. Tablo 3.21, 3.22, 3.23) test grubunda, kontrol grubuna kıyasla SCD ve KAS değerleri ile daha fazla sayıda kırmızı kompleks bakteri arasında korelasyon bulunduğu görülmektedir. Test grubundan farklı olarak kontrol grubunda örnek alınan dişlere ait SCD ve KAS ile sadece *Td* arasında korelasyon bulunmaktadır. Bu durum örnek alınan dişlere ait verilerde örneklem sayısının az olmasından kaynaklanabilir. Örneklem sayısını genişleterek tedavi edilen  $\geq 5$  mm ve üzeri tüm ceplere ait SCD ve KAS ile kırmızı kompleks bakteriler arasındaki korelasyon sonuçlarını incelediğimizde ise test grubunda SCD ve KAS ile tüm kırmızı kompleks bakteriler arasında korelasyon bulunduğu, kontrol grubunda KAS ile tüm kırmızı kompleks bakteriler arasında, SCD ile sadece *Td* arasında korelasyon bulunduğu görülmektedir. SCD değerleri ile kırmızı kompleks bakteriler arasındaki ilişkinin kontrol grubunda korelasyon sonuçlarına yansıyamaması, kontrol grubunda sadece CPT uygulaması ile MDP'nin bozulması sonucu SCD'de azalma sağlandığını ancak sadece CPT uygulamasının olası periodontopatojenler üzerine yeteri kadar etkili olamaması ile ilişkilendirmekteyiz. Tüm bu sonuçları topladığımızda da sadece CPT

uygulaması ile biyofilmin bozulması sonucu klinik parametrelerde azalma sağlandığı bununla birlikte CPT'ye ek olarak ABSP uygulamasının özellikle kırmızı komplekse ait olası periodontopatojenler üzerinde gerçekleştirdiği antimikrobiyal etkinlik sayesinde hem KAS hem de SCD parametrelerinde iyileşmeye katkıda bulunduğunu düşünmekteyiz.

Klinik bulgularımızda gözlenen en çarpıcı sonuçlardan biri CPT'yi takiben sadece başlangıçta 1 kez uygulanan ABSP'nin etkinliğini tedaviden sonraki 1. ayda göremezken, ABSP'nin 1. aydan 3. aya gerçekleşen iyileşme sürecinde etkili olması ve istatistiksel farklılığı 3. ayda görebilmemizdir. ABSP'nin 1. ay ile 3. ay arasında oluşturduğu etkiyi açıklamada 3 muhtemel mekanizma üzerinde durmaktayız:

Birincisi ve en önemlisi yukarıda bahsettiğimiz, sadece CPT uygulaması ile yeterli eliminasyon sağlanamamış olası periodontopatojenler üzerine ABSP'nin antimikrobiyal etki göstermesi ve bu sayede rekolonizasyonu geciktirmiş olabileceğidir. 2. muhtemel neden ABSP'nin subgingival biyofilmin tekrar oluşabileceği kök yüzeyinde, yüzey modifikasyonu gerçekleştirerek olası periodontopatojenlerin rekolonizasyonu önlemiş olabileceğidir. Kovala ve ark.<sup>255</sup> dentin yüzeyine ABSP uygulaması sonrası dentin yüzeyinin üst tabakalarında daha pürüzsüz bir yüzey elde edildiğini elektron mikroskopuyla yaptıkları incelemede göstermişlerdir. Oluşan bu etkiyi ABSP ile üretilen ROT veya nitrojen türlerinin ve yüklü partüküllerin dentin yüzeyindeki kollajen gibi organik yapılarla etkileşim göstermiş olabileceği veya plazma deşarjı ile gerçekleşen iyon bombardımanın yüzeydeki çıkıntılı, pürüzlü inorganik yapıları yumuşatmış, daha pürüzsüz hale getirmiş olabilmesine bağlamışlar, bunun da bakteri rekolonizasyonunu azaltabileceğini belirtmişlerdir. Bununla birlikte Chen ve ark.<sup>327</sup> da dentin yüzeylerine uyguladıkları ABSP'nin dentin yüzeyinde morfolojik bir değişikliğe neden olmaksızın yüzeyi süper hidrofilik hale getirdiğini ve yüzeyde oksijen bağlı yeni polar bölgeler oluştuğu ve bunun da yüzeyin bağlanma enerjisini arttırdığını göstermiştir. Ayrıca titanyum implant yüzeyine ABSP uygulanmasının yüzey ıslanabilirliğini arttırdığı bu sayede osteoblastların implant yüzeyine daha iyi yayıldığı da bilinmektedir.<sup>238</sup> Çalışmamızda CPT'ye ilave ABSP uygulamasının dentin yüzey modifikasyonu gerçekleştirmiş olabileceğini böylece hem rekolonizasyonun azaltılmış hem de hücre yapışması için uygun hidrofilik bir yüzey oluşturularak doku iyileşmesinin desteklemiş

olabileceğini düşünmekteyiz. Bu konuyla ilgili çalışmalar bizi destekler nitelikte olmasına rağmen ABSP'nin dentin yüzeyinde oluşturduğu modifikasyon ile mikroorganizma rekolonizasyonu arasındaki ilişkinin ilave in vitro, in vivo ve klinik çalışmalarla aydınlatılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

CPT'ye ilave ABSP uygulamasının CPT'den sonraki 1. ay ile 3. ay arasında oluşturduğu etkiyi açıklamada üzerinde durduğumuz 3. muhtemel mekanizma ise; ABSP'nin periodontal yara iyileşme sürecini etkileyen faktörler üzerine etkinlik göstermiş olabileceğidir. CPT sonrası periodontal cep epiteli ile kök yüzeyi arasında yara bölgesi oluşmaktadır. Her ne kadar periodonsiyumda oluşan yaranın iyileşme süreci açık yaralarda ki iyileşme sürecinden farklı olsa da yara iyileşmesinin üç temel aşaması bulunmaktadır: Hemostazis ve enflamasyon fazı (1-3 gün sürer), epitelizasyonun, fibroblast migrasyonunun, anjiogenezisin ve kollajen sentezinin yapıldığı proliferasyon fazı (4.gün ile 2. hafta arası) ve maturasyon fazı (1.haftadan sonra başlayıp haftalarca hatta aylarca sürmektedir).<sup>328</sup> Kronik yaralarda iyileşme, belirtilen süreçlerden daha uzun sürelerde gerçekleşmektedir. Yarada enfeksiyon varlığı, yara çevresinin kanlanması ve oksijenizasyonu yara iyileşmesi sürecini etkileyen önemli faktörlerdir.<sup>329</sup> Mikroorganizma ve ürünlerine sürekli maruz kalınan hastalıktan etkilenmiş periodontal mikroçevrede damarlanma bozulmuş ve oksijenizasyon azalmış olduğundan iyileşme normal yara iyileşmesi sürecinden farklı ve daha uzun sürelerde gerçekleşmektedir.<sup>330</sup> ABSP'lerin epitelizasyonu ve fibroblast migrasyonunu arttırdığı, çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin salınımını tetiklediği ve yara iyileşme sürecini hızlandırdığı, ayrıca anjiogenezisi ve endotel hücre proliferasyonunu arttırarak bozulmuş sirkülasyonun düzenlenmesini sağladığı gösterilmiştir.<sup>317</sup> Konak defansı ile mikroorganizmalar arasında dinamik bir ilişki olduğu; bununla birlikte konak immün cevabındaki değişikliklerin bazı olası periodontopatojenlerin virülansı üzerine etkin olabileceği de bilinmektedir.<sup>331</sup> Çalışmamızın bulgularına döndüğümüzde ABSP'nin Gİ ve SKY değerleri üzerinde etkin olduğunu gözlemlemiştik. ABSP'nin CPT'ye ilave uygulamasının periodontal dokularda biyostimülasyon yaparak cep tabanındaki iyileşme sürecini olumlu yönde etkilemiş olabileceğini bu nedenle SCD ve KAS değerlerinde daha iyi sonuçlar elde etmiş olabileceğimizi düşünmekteyiz.



Çalışmamızın tüm klinik bulgularını topladığımızda CPT'ye ilave ABSP uygulamasının Gİ, SKY, SCD ve KAS parametreleri üzerine olumlu etkide bulunduğu görülmektedir. Bu etki özellikle rekolonizasyonun önlenmesi veya geciktirilmesinde ortaya çıkmakta ve bu gözlemimiz çalışmamızın mikrobiyolojik bulgularıyla da desteklenmektedir. ABSP'nin antimikrobyal etkinliği sayesinde daha fazla olası periodontopatojen eliminasyonu sağlaması ve muhtemel yüzey modifikasyonu etkinliği sayesinde rekolonizasyonu azalttığını veya geciktirdiği ayrıca yüzey hidrofilitisini ve bağlanma enerjisini artırarak hücre-yüzey ilişkisini etkilemiş ve biyostimülasyon etkisi ile de yara iyileşmesi sürecini hızlandırmış olabileceği literatür desteği alınarak ortaya konmuştur.

### ***5.3. Biyokimyasal Bulguların Tartışılması***

Periodontal hastalık, MDP ve ürünlerine karşı konağın enflamatuvar ve immün cevabı sonucu gelişmektedir. Periodontal hastalıkla ilişkili olduğu düşünülen biyokimyasal belirteçlerin araştırılmasında çeşitli biyolojik örneklerde yapılan analizler kullanılmaktadır.<sup>332</sup> Hastadan alınan doku örnekleri, tükürük, kan serum veya plazması ve DOS bu amaçla kullanılan biyolojik örnekler olup araştırmacılar tarafından çalışmanın dizaynı ve incelenmek istenen duruma göre uygun olanı tercih edilmektedir. Tükürük periodontal hastalık biyokimyasal belirteçlerinin teşhis ve izleminde son yıllarda özellikle basit ve kolay toplanabilmesiyle tercih edilmektedir. Tükürük çeşitli enzim, konak mediyatörleri ve minerallerle birlikte ağızda bulunan ve tüm periodontal ceplerden kaynaklanan DOS'u da içermektedir. Ancak tükürük hastanın periodontal hastalık biyokimyasal belirteçleri hakkında genel durumla ilgili bilgi verdiğiinden lokal cevabın değerlendirildiği split-mouth çalışmalarda kullanımı uygun olmayıp özellikle büyük klinik çalışmalarda ve epidemiyolojik çalışmalarda tercih edilmektedir.<sup>333</sup> Serum da yine periodontal hastalık biyokimyasal belirteçlerinin teşhisinde kullanılmakta ancak lokal seviyede oluşan değişiklikleri yeteri kadar yansıtamamaktadır. Gingival biyopsi ise oldukça invaziv bir teknik olup bu yöntemle tekrarlayan örnekleme yapılması zordur.<sup>334</sup> Periodontal hastalık aktivitesi ve tedaviye verilen cevabın değerlendirilmesi; bölgeye özel veriler elde edilmesinde DOS sıklıkla kullanılmaktadır. DOS'ta yer alan proenflamatuvar ve antienflamatuvar sitokinler,

enzimler, adezyon molekülleri ve büyüme hormonları gibi konağın immüno-enflamatuvar cevabını yansıtan biyokimyasal belirteçlerin incelenmesi bireyin, periodontal sağlık veya hastalık durumunu yansıtmaması ve lokal hücrel metabolizmasının değerlendirilmesi açısından önem taşımaktadır.<sup>145</sup> Biz de çalışmamızda split-mouth çalışma dizaynı uyguladığımız ve ABSP'nin periodontal ceplerdeki lokal etkisini incelemeyi amaçladığımız için hastalığın biyokimyasal belirteçlerinin tespit edilmesinde DOS örneklerini kullanmayı tercih ettik. Ağızda cep bulunan tüm dişlerden örnekleme yapmamız mümkün olmadığından çalışma gruplarında seçilmiş ve havuzlanmış iki dişe ait DOS örneklerinden ilgili biyokimyasal belirteçlerin analizi ve değerlendirmesi yapılmıştır.

Sağlıklı durumda çok az miktarda bulunan DOS, klinik olarak diş etinde enflamasyon tespit edildiğinde mikrovasküler vazodilatasyondan kaynaklı hacimsel olarak artış göstermektedir.<sup>143</sup> Etkili bir CPT sonrası ise DOS hacimlerinde azalma meydana geldiği çok sayıda araştırmada ortaya konmuştur.<sup>105, 218, 335, 336</sup> Nitekim çalışmamızda literatürdeki çalışmalarla uyumlu olarak CPT sonrası her iki grupta da başlangıca göre DOS hacimlerinin azaldığı ve 1. ayda başlangıç seviyelerinden istatistiksel olarak daha düşük seviyelerde olduğu gözlenmektedir.

DOS'un standart üretilmiş filtre kâğıt şeritlerle toplanması çalışmalarda en sık kullanılan yöntemdir.<sup>143,337</sup> Kağıt filtrelerin diş eti oluşu içerisinde konumlandırılması ile ilgili iki farklı yaklaşım bulunmaktadır. İlki kâğıt filtrenin cep içerisinde direnç hissedilinceye kadar ilerletilmesi ve direnç alındığında durulmasıdır. Bu yöntemde travmadan kaynaklı DOS akışı uyarımı gerçekleştirilebileceğinden çalışmamızda daha sık kullanılan oluk içine kağıt filtrenin 1-2 mm yerleştirilmesi yöntemi<sup>143, 337</sup> tercih edilmiştir. Standardizasyonun sağlanması çalışmalardan elde edilen sonuçların karşılaştırılması açısından büyük önem taşımakta ve kâğıt filtreler, örnek toplanmasının standardizasyonu açısından da önemli kolaylık sağlamaktadır. DOS hacmi mekanik uyarılar, hormonlar, diş etinde enflamasyon ve periodontal tedavi gibi birçok faktörden etkilenmekte bu nedenle kâğıt şeritlerle DOS örneklerinin standart sürelerde toplanması ayrıca önem arz etmektedir. Çalışmamızda yaygın olarak kullanılan; örnek alınacak dişin iyi bir şekilde izolasyonu sağlanıp, kâğıt şeritin oluk içine 1-2 mm yerleştirilmesi ve 30 s beklenilerek DOS örneklerinin toplanması yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde oluk içine sığ olarak yerleştirilen kağıt şeridin

hem birleşim epitelini daha az travmatize ederek cep oluşunda DOS akışının mekanik olarak uyarımı önlenmiş hem de belirli ve eşit sürede toplanmış örnek içindeki biyokimyasal belirteçlerin total miktarlarının karşılaştırılabilmesine olanak sağlanmış olmaktadır.<sup>143, 337</sup>

DOS hacimlerinde gerçekleşen büyük artışların, DOS örneğinde bulunan biyokimyasal belirteçlerin konsantrasyonunun azalmasına neden olabileceği belirtilmektedir.<sup>105, 338</sup> Bu nedenle DOS içeriğinin standart sürede toplanmış total miktarı üzerinden yapılan değerlendirmelerin, konsantrasyon miktarlarıyla yapılacak değerlendirmelerden daha doğru ve daha hassas olacağı bildirilmiştir.<sup>105, 339</sup> Araştırma bulgularımızda IL-1 $\beta$ , IL-10, MMP-8, VEGF, TOS ve TAOK'a ait total miktar ve konsantrasyon değerleri sunulmuş ancak sonuçların değerlendirilmesi ve tartışılması total miktarlar üzerinden yapılmıştır.

Periodontal hastalıkla ilişkili olduğu düşünülen biyokimyasal belirteçlerin belirlenmesinde DOS'un toplama tekniği kadar hangi yöntemle analiz edileceği de büyük önem taşır. DOS içeriğindeki biyokimyasal belirteçlerin tespitinde amaca yönelik olarak ELISA<sup>120</sup>, immüno florometri<sup>137</sup>, dama tahtası immünoblot tekniği<sup>340</sup> gibi bir çok analiz teknikleri kullanılmaktadır.<sup>332</sup> DOS içeriğinin tespitinde kullanılacak yöntemin çok küçük hacimlerde çok az miktarda bulunan mediyatörleri saptayabilecek hassasiyette sahip olması ve uygulamasının sofistike olmaması istenmektedir<sup>147</sup>. DOS içeriğinde bulunan IL-1 $\beta$ <sup>105-108</sup>, IL-10<sup>119-121</sup>, MMP-8<sup>140, 341</sup> ve VEGF<sup>342, 343</sup>'nin ELISA yöntemi kullanılarak değerlendirildiği çok sayıda çalışma bulunmaktadır. ELISA, DOS içindeki ilgili antijenin yeterli ve güvenilir tespitini sağlaması nedeniyle periodontoloji alanında oldukça sık kullanılmaktadır.<sup>337</sup> Çalışmamızda DOS'ta bulunan IL-1 $\beta$ , IL-10, MMP-8 ve VEGF seviyeleri, sık kullanılan bir yöntem olması ve bulgularımızı diğer çalışmalarla karşılaştırma olanağı sunması nedeniyle ELISA yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir.

Periodontal hastalığın da aralarında bulunduğu pek çok hastalık oksidasyon-redüksiyon dengesizliği veya oksidatif stresle ilişkili bulunmuştur. Oksidatif stresin periodontal hastalıktaki etkisini değerlendirmek için biyolojik örneklerde oksidan ve antioksidanlar arasındaki denge göz önüne alınmaktadır. Tek tek antioksidan madde veya son ürünlerin değerlendirilmesi oldukça zor, karmaşık ve pahalı bir yöntemdir.

Ayrıca kan plazmasında antioksidanlar sinerjik bir etkileşim içinde olup oluşan bileşimler, antioksidanın tek başına yaptığı etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşturabilmektedir.<sup>160</sup> Bu nedenle antioksidanların ölçümünde total antioksidan ölçümü giderek önem kazanmaktadır. Aynı şekilde vücutta serbest oksijen radikallerinin hücre membranı, lipit, protein ve nükleik asitler gibi çeşitli yapılar üzerine farklı etkileri bulunmakta ve bu etkiler sonucu farklı son ürünler oluşmaktadır. Oksidan durum ölçümü ise bu farklı son ürünlere göre yapılmaktadır. Her biri farklı bir hücre hasarını gösteren son ürünlerin tek tek ölçümüne kıyasla oluşan toplam oksidan durumun ölçümü ise oksidatif stresi açıklamada daha uygun gözükmektedir.<sup>154</sup> Bu nedenle çalışmamızda oksidan ve antioksidanların toplam etkisinin saptanması planlanmış ve vücut sıvılarında TOS'unu<sup>154</sup> ve TAOK'unu<sup>160</sup> ölçen tam otomatik, kolorimetrik yöntem tercih edilmiştir.

Periodontal hastalıkta olası periodontopatojenler ve onların ürünlerinin makrofajları, B ve T hücrelerini uyarması ile immün cevap başlatılmakta ve çeşitli sitokinlerin salınımı uyarılmaktadır. Periodontitis hastalarında, periodontal olarak sağlıklı bireylere kıyasla DOS'da artmış IL-1 $\beta$  seviyeleri birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir.<sup>338, 344, 345</sup> Bunun yanında CPT sonrası enflamasyonun çözülmesiyle birlikte başlangıç IL-1 $\beta$  seviyelerinde düşüş gözlemlendiği, IL-1 $\beta$ 'nin periodontal hastalık aktivitesiyle ilişkili önemli bir sitokin olduğu da belirtilmektedir.<sup>105, 338</sup> Tsai ve ark.<sup>105</sup> periodontitis hastalarında artmış IL-1 $\beta$  seviyelerinin CPT'den sonraki 1. ayda anlamlı derecede azaldığını bildirirken benzer şekilde Hou ve ark.<sup>335</sup> da KP hastalarında yaptıkları çalışmada CPT sonrası DOS IL-1 $\beta$  total miktarının azaldığını göstermiş, IL-1 $\beta$ 'nin periodontal durum ve hastalık aktivitesiyle ilişkili önemli bir parametre olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda diğer çalışmaların bulgularıyla benzer şekilde<sup>105, 335, 336, 338, 346</sup> CPT'den sonra her iki grupta da total IL-1 $\beta$  seviyelerinin azaldığı ve çalışma sonunda başlangıç seviyelerinden daha düşük seviyede olduğu görülmektedir. Literatürde IL-1 $\beta$ 'nin CPT sonrası azalmasının bakteriyel ürünler ve konak etkileşimi sonucu periodontal bağ doku hücrelerinden (örn. fibroblastlar, endotel hücreleri vb.) ve lökositlerden (örn. nötrofil, makrofaj, monosit vb.) lokal olarak yüksek miktarda IL-1 $\beta$  salınımının subgingival biyofilmin bozulması ve enflamasyonun çözülmesiyle birlikte azalmasından kaynaklanmış olabileceği belirtilmektedir.<sup>105</sup> Araştırmamızda IL-1 $\beta$  seviyesinde gerçekleşen azalmanın CPT

sonrası enflamasyonun çözümlenmesine bağlamaktayız. Çalışmamızda IL-1 $\beta$  seviyeleri ile test ve kontrol gruplarındaki örnek alınan dişlere ait tüm klinik parametreler arasında pozitif yönde değişen güçte korelasyon bulunmaktadır. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuçlar periodontitis hastalarında, CPT sonrası DOS total IL-1 $\beta$  seviyelerinin klinik periodontal parametrelerle doğru orantılı olarak azaldığı ve IL-1 $\beta$ 'nin periodontal hastalık şiddetiyle ilişkili önemli bir sitokin olduğunu belirten literatür çalışmalarıyla<sup>105, 338</sup> uyumludur.

Bununla birlikte çalışmamızda IL-1 $\beta$  seviyelerinde, hiçbir örnekleme zamanında, gruplar arasında istatistiksel bir farklılık saptanamamıştır. Bu durum muhtemelen KP'nin tedavisinde CPT'nin ilk 3 ayda zaten oldukça etkin olması; bu nedenle ABSP'nin DOS total IL-1 $\beta$  seviyeleri üzerinde ilave etkinlik göstermede yetersiz kalmasından kaynaklanmış olabilir. Çalışmamızda IL-1 $\beta$  seviyelerini grup içi değerlendirdiğimizde, CPT'den sonraki 1. ay ile 3. ay arasında IL-1 $\beta$  seviyelerinin test grubunda azalmaya devam ettiği, kontrol grubunda ise hafif bir artış olduğu gözlenmektedir. ABSP'nin klinik ve mikrobiyolojik sonuçlarımızda da gözlenen, 1.ay ile 3. ay arasında rekolonizasyon üzerine etkisinin IL-1 $\beta$  seviyelerine istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yansımadağı görülmektedir. DOS total IL-1 $\beta$  ortalama değerlerinde gözlenen farkın, istatistiksel olarak anlamlı ifadeye dönüşmesi için daha fazla örnek sayısına ihtiyaç olabileceğini düşünmekteyiz.

IL-10 farklı hücre tiplerinde etkileri olan esas olarak antiinflamatuvar etkili bir sitokindir. Monosit, makrofaj, B ve T hücrelerince üretilen IL-10 proinflamatuvar sitokin sentezini engellemesi, makrofajların aktivitesini baskılaması, immün ve inflamatuvar cevabın süresini ve derecesini sınırlaması ile immün cevabın düzenlenmesinde rol alan önemli bir sitokindir.<sup>347</sup> Zhang ve ark.<sup>120</sup> sağlıklı bölgelere kıyasla periodontal hastalıklı bölgelerde DOS'da azalmış IL-10 seviyelerini gösterirken Yamamoto ve ark.<sup>348</sup> ise bireylerin immün cevaplarında değişiklik olabileceğini, yardımcı T hücre 2 oranı yüksek bireylerde, periodontal hastalıklı bölgelerden yüksek miktarda IL-10 salınabileceğini de bildirmiştir. IL-10'un periodontal hastalıklı bölgelerde inflamatuvar cevabın dengelemesinde reaktif olarak artış gösterebileceği gibi periodonsiyumunda azalmış IL-10 seviyelerinin periodontal hastalık gelişiminden sorumlu olabileceği yorumları yapılmaktadır.<sup>349</sup>

IL-10'un esas olarak antiinflamatuvar bir sitokin olmasıyla birlikte periodontal dokulardaki varlığı ile periodontal hastalıktaki ilişkisi çok açık değildir. Bununla birlikte CPT'nin IL-10 üzerine etkisini gösteren çalışmalarda sonuçlar da farklılık göstermektedir. Goutouidi ve ark.<sup>336</sup> KP hastalarında DOS IL-10 seviyelerinin sağlıklı bireylerle benzer olduğunu ve CPT sonrası DOS total IL-10 miktarının değişmediğini gösterirken, Luchesi ve ark.<sup>350</sup> ise KP'nin CPT'si sonrası IL-10 seviyelerinin arttığını bildirmiştir. Bununla birlikte KP hastalarında CPT'den sonra IL-10 seviyelerinin azaldığını<sup>106</sup>, değişmediğini<sup>336, 351</sup> veya arttığını<sup>350, 352, 353</sup> gösteren başka çok sayıda çalışma da mevcuttur. Çalışmamızın bulgularını incelediğimizde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmesi de her iki çalışma grubunda DOS total IL-10 miktarının tedaviden sonraki 1. ayda azaldığı gözlenmiştir. Konak dokularında sağlıklı durumda proenflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasında bir denge bulunmaktadır. Antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10'un hastalıklı periodontal dokularda kronik enflamasyona cevap olarak artabileceği ve periodontal hastalıkta artan proenflamatuvar durumun ve periodontal hastalık şiddetinin sınırlanmasında önemli rolü olduğu belirtilmektedir.<sup>347, 354</sup> Sasaki ve ark.<sup>331</sup> yaptıkları in vivo çalışmada IL-10 üretimi genetik olarak engellenmiş farelerin, Pg ile indüklenmiş enfeksiyona daha yatkın olduğunu ve IL-10 yokluğunda hastalık şiddetinin arttığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda CPT ile MDP'nin mekanik olarak yapısının bozulmasını takiben 1. ayda periodontal enflamasyonun büyük oranda azalmasıyla birlikte periodontal dokulardan IL-10 salınımının azaldığını düşünmekteyiz. Buna ilaveten istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte 3. ayda IL-10 seviyelerinin artmış olduğu da saptanmıştır. IL-10 seviyelerinin 3. ayda artış göstermesi mikrobiyolojik sonuçlarımızda da gösterildiği üzere rekolonizasyona bağlı; reaktif olarak artmış olabileceği gibi periodontal sağlığın devamının sağlanmasında IL-10'un rolü olabileceğini de düşündürmektedir.

Bulgularımızda DOS total IL-10 seviyelerinin, 3. ayda kontrol grubunda, test grubundan daha yüksek olduğu bulunmuş ayrıca kontrol grubunda daha fazla rekolonizasyon gözlenmiştir. Bu bulgulara ilave olarak test ve kontrol gruplarında DOS total IL-10 miktarı ile tüm mikroorganizmalar arasında pozitif yönde güçlü korelasyon bulunması, 3. ayda artan IL-10 seviyelerinin rekolonizasyona bağlı reaktif olarak artmış olabileceği fikrimizi destekler niteliktedir.

ABSP ile üretilen ROT ve RNT'lerin hücre içi redoks sinyal yollarını uyararak redoks dengesinin sağlanmasında ve çeşitli sitokinlerin gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir.<sup>3, 355</sup> ABSP'nin insan keratinositlerinde TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  gen ekspresyonunu inhibe ederek antienflamatuvar etkide bulunduğu in vitro yapılmış bir çalışmada gösterilmişken <sup>319</sup>, Lee ve ark.<sup>356</sup> farelerde oluşturdukları yara üzerine ABSP uygulamasının etkisini değerlendirdikleri çalışmada ABSP uygulanmış yara dokusunda, uygulanmayan kontrol grubuna kıyasla IL-10 ekspresyon seviyelerinin daha yüksek bulunduğunu gözlemlemiş, çalışma sonunda ABSP'nin daha iyi yara kapanması ve epitelizasyon sağladığını ve ABSP'nin çeşitli sitokinlerin düzenlenmesini sağlayarak yara iyileşmesine katkıda bulunduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda test ve kontrol grupları IL-10 miktarları arasında, hiçbir örnekleme zamanında istatistiksel anlamlı farklılık görülmemektedir. Lee ve ark.'nin<sup>356</sup> yaptığı in vivo çalışmada iyileşmenin erken dönem sonuçlarının incelendiği ve ABSP'nin IL-10 üzerine etkisinin bu sürede değerlendirildiği düşünüldüğünde; çalışmamızda ABSP'nin IL-10 üzerine etkinliğini göremeyişimiz örnekleme zamanımızla ilişkili olabilir. Tedaviden kısa dönem sonraki iyileşme parametrelerini değerlendirmiş olsaydık ABSP'nin IL-10 üzerine etkinliğini görebileceğimizi düşünmekteyiz.

Periodontal dokularda kronik enflamasyona bağlı olarak damarlanmada artış ve yapısında değişiklikler meydana gelmektedir. Chapple ve ark.<sup>357</sup> tedavi edilmemiş periodontitisli hastalardan elde ettikleri periodontal bağ dokusunda damar çeperlerinin niceliksel ve niteliksel olarak değiştiğini göstermekle birlikte hastalıklı periodontal dokudaki VEGF miktarının düşük bulunduğunu da bildirmişlerdir. Buna karşılık çalışmaların sonuçlarında daha sık karşılaşılan durum ise VEGF'nin hastalıklı bölgelerde sağlıklı bölgelere kıyasla daha yüksek seviyede saptanmasıdır.<sup>126, 342, 343, 358,</sup>  
<sup>359</sup> Booth ve ark.<sup>126</sup> periodontal hastalık bulunan bölgelerde sağlıklı bölgelere göre artmış DOS VEGF seviyelerini gözlemlemiş, VEGF'nin hem periodontal sağlığın idame edilmesinde hem de periodontal hastalıkta rolü olabileceğini bildirmiştir. VEGF'nin periodontal hastalık patogenezindeki rolü açık olmamakla birlikte anjiogeneziste ve periodontal dokularda yara iyileşmesi sürecinde artan oksijen ve besin kaynağının sağlanmasında önemli rolü olduğu belirtilmiştir.<sup>360</sup> Prapulla ve ark.<sup>342</sup> periodontitis hastalarında, sağlıklı bireylerden daha yüksek DOS VEGF

seviyeleri bulunduğunu ve CPT sonrası periodontitis hastalarında DOS VEGF seviyelerinin azalarak sağlıklı bireylere yaklaştığını, Türer ve ark.<sup>358</sup> da benzer şekilde KP hastalarında artmış DOS VEGF seviyelerinin CPT sonrası azaldığını göstermiştir. Bu çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamızda test ve kontrol gruplarında, DOS VEGF seviyelerinin tedavi sonrası 1. ayda istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görülmektedir. CPT sonrası azalan VEGF seviyelerinin enflamasyonun ve ödemin çözülmesiyle birlikte dokudaki normal sirkülasyona dönüş olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Gionnopolou ve ark. CPT sonrası 2. ayda VEGF seviyelerinin azaldığını, 6. ayda ise başlangıç seviyelerinin üstünde bulunduğunu ancak hiçbir örnekleme zamanında DOS VEGF seviyelerinde istatistiksel bir farklılık bulunmadığını göstermiştir.<sup>361</sup> Çalışmamızda her iki grupta da 3. ayda başlangıca göre hala düşük seviyelerde bulunmakla birlikte VEGF seviyelerinde 1. aya göre hafif bir artış olduğu gözlenmekte buna ilave başlangıca göre 3. ayda DOS total VEGF seviyelerinde istatistiksel farklılık görülmemektedir. Suthin ve ark.<sup>362</sup> Pg ve Aa'nın gingival fibroblastlardan VEGF üretimini tetiklediğini göstermiş, periodontal hastalık patogenezinde VEGF'nin vasküler geçirgenlik artışına bağlı enflamatuvar hücre birikimini ve dokudaki ödemin artmasında rolü olabileceğini bildirmişlerdir. Nitekim çalışma gruplarında Gİ, SKY, SCD ve KAS parametreleri ve olası periodontopatojenler ile VEGF seviyeleri arasında pozitif yönde güçlü korelasyon bulunması DOS total VEGF değerlerindeki mevcut artışın rekolonizasyona bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte VEGF ile hem olası periodontopatojenler hem de klinik parametreler arasında korelasyon görülmesi, VEGF'nin periodontal enflamasyonu iyi yansıtan bir biyobelirteç olabileceğini de düşündürmektedir.

ABSP'lerin dokuda minimal ısı artışı sağlayarak sirkülasyonu arttırdığı, anjiogenezisi tetiklediği, çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin gen ekspresyonunu arttırarak; salınımlarını stimüle ettiği gösterilmiştir.<sup>320, 363</sup> ABSP ile üretilen ROT'lar fibroblast büyüme faktörü salınımını uyarmasıyla endotelial hücre proliferasyonunu aktiflemekte ve anjiogenezise yol açmaktadır.<sup>318, 320</sup> Choi ve ark.<sup>319</sup> ABSP'nin insan keratinositlerinde tip 1 kollajen ve VEGF gen ekspresyonunu arttırdığı göstermiştir. Bununla birlikte Kwon ve ark.<sup>314</sup> gingival fibroblastlarda 2 dk.'lık ABSP



uygulamasının kontrol grubuna kıyasla VEGF gen ekspresyonunu arttırdığını göstermiş, ABSP ile üretilen nitrik oksit bu etkiden sorumlu olduğunu bildirmiştir. ABSP kaynaklı anjiogenezis etkisinin nitrik oksit dışında ROT (hidrojen peroksit ve hidroksil radikali) üretimine de bağlı olabileceği bildirilmektedir.<sup>294, 318</sup> Çalışmamızda DOS total VEGF miktarlarını gruplar arası karşılaştırdığımızda, hiçbir örnekleme zamanında istatistiksel olarak bir farklılık saptanamamıştır. Bununla birlikte çalışmamızın klinik bulgularına döndüğümüzde kontrol grubuna kıyasla test grubunda Gİ ve SKY değerlerinin daha düşük bulunması ABSP'nin iyileşme süresi ve süreci üzerine olan etkisini göstermektedir. Literatürde bulunan çalışmalarda<sup>314, 319</sup> ABSP'nin etkinliğinin iyileşmenin erken dönemlerinde değerlendirildiği görülmektedir. ABSP'nin iyileşmenin erken döneminde VEGF üzerinde etkili olması ve çalışmamızda da CPT sonrası periodontal dokulardaki iyileşmenin biyokimyasal olarak değerlendirildiği ilk sürenin CPT'den sonraki 1. ay gibi uzun bir süre olması nedeniyle çalışmamızda, ABSP'nin periodonsiyumdaki VEGF seviyeleri üzerine etkisi maskelenmiş olabilir.

Hastalıklı periodonsiyumda esas olarak nötrofillerden üretilerek DOS'a salınan MMP-8 periodontal hastalıkta enflamasyonun şiddetiyle ilişkili önemli bir konak proteazıdır.<sup>134</sup> Nötrofil kaynaklı MMP-8'in periodontal bağ dokusu yıkımından sorumlu ana kollejenaz olduğu belirtilmekle birlikte periodontal ligament ve diş eti fibroblastlarından, endotel ve epitel hücrelerinden de MMP-8 salındığı bildirilmektedir.<sup>134</sup> CPT sonrası azalan enflamasyonla birlikte MMP-8 seviyelerinin de azaldığı gösterilmiştir.<sup>138, 141</sup> Buna karşılık MMP-8 seviyelerinin CPT sonrası değişmediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur.<sup>364, 365</sup> Hernandez ve ark.<sup>365</sup> periodontal hastalığın aktif ve pasif olduğu bölgelerde CPT'nin MMP-8 üzerine etkisini karşılatırmış, inaktif bölgelerde tedaviden sonra DOS total MMP-8 seviyelerinin azalırken aktif bölgelerde DOS total MMP-8 seviyelerinin değişmediğini bildirmiştir. Çalışmamızda hem test hem de kontrol grubunda başlangıca göre 1. ve 3. aylardaki MMP-8 seviyelerinde istatistiksel bir farklılık saptanamamış, MMP-8 seviyelerinin çalışma boyunca değişmediği gözlenmiştir. Sondalamada kanama varlığı periodontal dokulardaki aktif enflamasyonu göstermekle birlikte sondalamada kanama bulunan dişlerde diş kaybı riskinin 2 kat arttığı Matuliene ve ark.<sup>366</sup> tarafından gösterilmiştir. Çalışmamızda örnek toplanan dişlere ait SKY değerlerine baktığımızda

SKY'nin (Ort.  $\pm$  Ss), test grubunda  $79 \pm 30$ , kontrol grubunda  $85 \pm 25$  olduğu görülmektedir. Örnek alınan dişlerin çenedeki en derin bölgeden alındığı da düşünüldüğünde MMP-8'in tedavi sonrası değişmemesinin, örnekleme yapılan bölgelerde hastalığın aktif durumda olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Bununla birlikte çalışmamızda CPT sonrası total MMP-8'in seviyelerinin değişmeden kalmasını DOS'da MMP-8 enzim aktivitesinin değil enzimin varlığının gösterilmiş olabilmesine bağlamaktayız. MMP-8'in nötrofillerin granüllerinde paketlenmiş halde bulunduğu, hücre dışına inaktif formda proenzim olarak salındığı, katalitik yıkım veya konformasyonel değişimlerle aktif forma dönüştürüldüğü, DOS'da hem aktif hem de inaktif formlarının bulunabileceği belirtilmektedir.<sup>367</sup> Ayrıca MMP-8'in aktif formlarının özellikle alveolar kemik yıkımıyla ilişkili ilerleyici karakterdeki periodontitiste yüksek bulunduğu, inaktif (latent) formlarının ise stabil periodontitis ve gingivitisle ilişkili olduğu da gösterilmiştir.<sup>367</sup> MMP-8'in DOS'da tespit edilmesi her zaman için aktif enzimin varlığını göstermediği, MMP-8'in analizinde kullanılan yöntemle bağlı olarak tespit edilen formlarının değişebileceği ve elde edilen sonuçlarda farklılık oluşabileceği Gürsoy ve ark.<sup>368</sup> tarafından gösterilmiştir. Ayrıca ELISA kitindeki antikorların MMP-8'in her iki formuna da ait antijenlere bağlandığı belirtilmektedir.<sup>368</sup> Çalışmamızda MMP-8'in analizinde ELISA yöntemi kullanılmıştır. MMP-8'in aktif formlarını tespit eden analiz yöntemlerinin kullanılmasının MMP-8 seviyelerinde oluşan değişimlerin görülebilmesinde fayda sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda MMP-8'in her iki formunun da tespit edilmiş olması MMP-8 enziminin periodonsiyumda varlığını göstermekle birlikte tedavi sonrası değişmeden kalmış olması periodontal hastalığın aktivitesinin devam ettiğini<sup>367</sup> veya iyileşme sürecinde reaktif olarak yükselmiş olabileceğini<sup>134, 369</sup> düşündürmektedir. Literatürde CPT sonrası değişmeyen veya artan MMP-8 seviyelerinin periodontal dokulardaki onarım veya koruyucu/savunma süreçleriyle ilişkili olabileceği belirtilmektedir.<sup>134, 369</sup> Yakın zamanda yayınlanan bir derlemede MMP enzimlerinin çok sayıda ve farklı substratlara sahip olduğu, bu substratların arasında enflamasyona yol açan proteinlerin de bulunduğu ve MMP'lerin de bu proteinlerin ortadan kaldırılmasında önemli rol oynadığı gösterilmiştir.<sup>369</sup> Yara iyileşmesi sürecinin sağlıklı bir şekilde tamamlanabilmesi için enflamasyondan etkilenmiş ve yapısı bozulmuş kollajen ve

diğer ESM proteinlerinin proteazlarla ortadan kaldırılması ve yerine sağlıklı hücrelerin geleceği geçici bir fibrin matrisi oluşturulması gerekmektedir.<sup>369</sup> MMP'lerin yara iyileşmesi sürecinde, ESM'nin kapsamlı biçimde yeniden yapılanmasında önemli rolü bulunmaktadır. Lund ve ark.<sup>370</sup> çok sayıdaki MMP'nin proteaz aktivitesini inhibe eden Galardin ile MMP aktivitesi baskılanmış farelerde yara iyileşmesinin geciktiğini göstermişlerdir. Bununla birlikte MMP-8'den yoksun farelerde yara iyileşmesinin ve epitelizasyonun geciktiği, yara iyileşme sürecinin sağlıklı biçimde devam edebilmesinde nötrofil türevli MMP-8'lerin önemli olduğu gösterilmiştir.<sup>371</sup> Çalışmamızda CPT sonrası MMP-8 seviyelerinin değişmemesi periodontal dokulardaki iyileşmenin devam ettiğini gösteriyor da olabilir.

ABSP'lerin MMP'ler üzerine etkisini değerlendiren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Schmidt ve ark.<sup>372</sup> insan keratinositleri üzerine tekrarlayan ABSP uygulamasının MMP-7, -10 ve -27'yi arttırdığını gösterirken, Chang ve ark.<sup>373</sup> ise ABSP'nin MMP-2/-9 aktivitesini ve gen ekspresyonunu azalttığını göstermiştir. Ancak literatür incelemesi yapıldığında ABSP'lerin MMP-8 üzerine etkisini inceleyen çalışmaya rastlanılamamıştır. Çalışmamızda gruplar arasında DOS total MMP-8 seviyelerinde istatistiksel bir farklılık olmadığı, CPT'ye ilave ABSP uygulamasının DOS total MMP-8 seviyeleri üzerine belirgin bir etkisinin olmadığını görmekteyiz.

Çalışmamızda MMP-8'e ait tüm bulguları incelediğimizde MMP-8'in test ve kontrol grubunda çalışma boyunca değişmediği ve gruplar arasında istatistiksel bir farklılık bulunmadığı görülmekle birlikte test ve kontrol gruplarında DOS total MMP-8 miktarları ile tüm mikroorganizmalar arasında pozitif yönde değişen güçte korelasyon bulunduğu da görülmektedir. MMP-8 total seviyelerinde fark bulunamamasına rağmen mikroorganizmalarla korelasyon göstermesi MMP-8 total seviyelerinde çok küçük miktarda değişimler meydana geldiğini ancak bu değişimlerin örneklem sayısının az olmasından kaynaklı istatistiğe yansımamasına bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Örneklem sayısının artırılması ile tedavi sonrası MMP-8 total seviyelerinde istatistiksel farklılık gözlenebileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca MMP-8'in aktif ve inaktif formlarını tespit eden analiz yöntemleri kullanılarak MMP-8 ile periodontal iyileşme cevabı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesine ihtiyaç bulunduğunu da düşünmekteyiz.

Bununla birlikte yukarıda değindiğimiz MMP-8 ile ilgili tüm literatür bilgilerini çalışmamızla ilişkilendirdiğimizde kontrol grubunda sadece CPT uygulaması ile yeterli mikroorganizma inaktivasyonu sağlanamadığı; CPT'den hemen sonra MMP-8 seviyelerinin azalmış olabileceğini ancak devam eden mikroorganizma kolonizasyonunun enflamasyonu tetiklemesi nedeniyle MMP-8 seviyelerinin tekrar artmış olabileceğini düşünmekteyiz. Bu nedenle kontrol grubunda MMP-8 seviyeleri CPT'den sonraki 1. ve 3. ayda değişmemiş olabilir. Bununla birlikte MMP-8 seviyeleri ile tüm olası periodontopatojenler arasında pozitif yönde korelasyon bulunduğu ve ABSP'nin olası periodontopatojenler üzerine etkili olduğu göz önüne alındığında, test grubunda MMP-8 seviyelerinin değişmemesinin periodontal dokulardaki iyileşme süreciyle ilişkili olabileceğini de düşündürmektedir.

Fagositik hücrelerin, özellikle de nötrofillerin lizozomlarında gerçekleşen oksidatif yanma ile mikroorganizma ve ürünlerini fagosite etmesi ve ortadan kaldırması esnasında büyük miktarda ROT'lar oluşmakta ve oluşan bu ROT'ların çeşitli enflamatuvar hastalıklarda direkt veya indirekt doku hasarında rolü bulunmaktadır. Kronik enflamatuvar bir hastalık olan periodontitiste subgingival plak bakterileri de bu süreci tetiklemektedir.<sup>149</sup> Hastalıklı dokularda çeşitli sitokin ve kemokinlerin salınımı ile iltihabi cevap şiddetlenmekte sonuç olarak periodontal dokularda hastalığın yayılımını sınırlamak için büyük miktarda doku yıkımı gerçekleşmektedir. Periodontitisli hastaların DOS'unda artmış oksidasyon ürünleri araştırmacılar tarafından gösterilmiştir.<sup>374, 375</sup> Konak dokularında artan ROT'ları dengelemek için endojen antioksidanların seviyesi de artmaktadır.<sup>149</sup> Bununla birlikte dokulardaki azalan antioksidan kapasite nedeniyle oksidasyon ürünlerin ortamdaki uzaklaştırılmadığı ve periodontal hastalığın bu nedenle gelişebileceği de bildirilmiştir.<sup>332</sup> Akpınar ve ark.<sup>376</sup> etkili bir CPT sonrası azalan enflamasyonla birlikte oksidan seviyenin azaldığı, antioksidan kapasitenin arttığını gösterirken, Toker ve ark.<sup>377</sup> ise periodontal olarak sağlıklı, sigara içen ve içmeyen KP'li bireylerde CPT'nin DOS TOS ve TAOK değerleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmada hem sağlıklı durumla periodontitis arasında, hem de sigara içmeyen periodontitis hastalarında CPT sonrası başlangıca göre DOS TOS ve TAOK değerlerinde istatistiksel bir farklılık bulunmadığını bildirmiş, CPT'nin sigara içmeyen periodontitis hastalarında DOS TOS ve TAOK seviyeleri üzerine etkisinin olmadığını belirtmişlerdir.<sup>377</sup> Çalışmamızın

bulgularına baktığımızda DOS total TOS değerlerinin test grubunda başlangıca göre 1. ayda azaldığı, 1. aydan 3. aya arttığı görülürken, kontrol grubunda ise başlangıçtan 3. aya kadar artış olduğu görülmektedir. DOS total TAOK seviyelerinde ise test grubunda 1. ayda azalma, 1. aydan 3. aya artış olduğu, kontrol grubunda da test grubuyla benzer şekilde 1. ayda azalma, 1. aydan 3. aya artış olduğu görülmektedir. Ancak DOS total TAS ve TAOK seviyelerinde, test ve kontrol gruplarında başlangıca göre hiçbir örnekleme zamanında istatistiksel farklılık saptanamadığı, CPT sonrası DOS total TOS ve TAOK seviyelerinin değişmediği gözlenmektedir.

Araştırmacılar tek başına TAS veya TAOK seviyelerinde görülen farklılıkların yorumlanmasındansa TAS ve TAOK arasındaki ilişkiyi gösteren OSİ değerlerini incelemenin oksidatif stresi belirlemede daha avantajlı olacağını bildirmişlerdir.<sup>154</sup> Bostancı ve ark.<sup>375</sup> CPT sonrası OSİ değerlerinin azaldığını, KP hastalarında lokal enflamatuvar faktörlerin OSİ değerleri üzerine etkisi bulunduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamakla birlikte her iki grupta da başlangıca göre 1. ayda ve 3. ayda daha düşük OSİ değerleri gözlenmektedir. OSİ değerlerindeki her iki grupta da 1. ayda gerçekleşen azalmanın CPT'nin etkisiyle periodontal enflamasyonun büyük oranda azalması ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte kontrol grubunda 1. aydan 3. aya OSİ değerlerinde artış olduğu da görülmektedir. Sawamoto ve ark.<sup>378</sup> sağlıklı bireylere göre KP hastalarında yüksek seviyede bulunan olası periodontopatojenlerin konakta oksidatif stres belirteci olan 8-hidroksideoksiguanozin artışına yol açtığını, KP hastalarında CPT sonrası klinik parametrelerde, olası periodontopatojenlerde ve oksidatif stres belirteçlerinde azalma sağlandığını göstermişlerdir. Çalışmamızda kontrol grubunda 1. aydan 3. aya görülen OSİ değerlerindeki artışın olası periodontopatojenlerin rekolonizasyonuna bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Gruplar arasında istatistiksel bir farklılık görülmemekle birlikte test grubunda 3. ayda daha düşük OSİ değerlerinin gözlenmesi CPT'ye ilave ABSP uygulamasının rekolonizasyonu azaltmış olabileceğiyle ilişkilendirmektedir.

Literatürde ABSP ile ilgili yapılmış in vitro ve in vivo çalışmalara baktığımızda ABSP uygulamasının dokuda ROT ve oksidatif stres belirteçlerinde artışa yol açtığı bununla birlikte mikroorganizma inaktivasyonu sağladığı ve yara iyileşmesini hızlandırdığı belirtilmektedir.<sup>3, 290</sup> Nastuta ve ark.<sup>290</sup> farelerde oluşturdukları yara

yüzeyine ABSP uygulamasının enflamatuvar sitokinlerde değişim yapmadan oksidatif stres belirteçlerinde lokal artışa yol açtığını, fibroblast ve keratinosit cevabını arttırdığını ve epitelizasyonu hızlandırdığını göstermişler; ABSP ile üretilen reaktif türlerden O ve OH'ı bu etkilerden sorumlu tutmuşlardır. Çalışmamızda CPT'ye ilave ABSP uygulamasının 1. ayda DOS total TOS ve OSİ değerlerinde azalma sağladığı görülmektedir. Literatürde ABSP uygulamasının oksidatif stres belirteçlerinde artışa neden olduğu belirtilmiştir.<sup>3, 290</sup> ABSP' nin oksidatif stresle ilişkisinin incelendiği bu in vitro veya in vivo çalışmalarda uygulamadan hemen sonra veya erken dönem sonuçların değerlendirildiği de görülmektedir.<sup>3, 290</sup> Çalışmamızda CPT' ye ilave düşük doz ve sürede, tek sefer ABSP uygulamasının, tedaviden sonraki 1. ve 3. aylarda, periodontal dokularda oksidatif stresi arttırmadığı, ABSP ile oluşan ROT ve RNT' lerin periodontal dokularda zararlı bir etkisinin bulunmadığını klinik parametrelerde gerçekleştirdiği düzelme sayesinde de görebilmekteyiz.

ROT ve RNT'lerin hem homeostazın idamesinde hem de patolojilerde önemli rol almaları nedeniyle sağlık veya hastalık durumlarındaki eşik değerleri günümüzde hala gizemini korumaktadır. ROT ve RNT'lerin özellikle de düşük konsantrasyonda, homeostazın devamında önemli olduğu, yüksek konsantrasyonda ve/veya uzun maruziyet koşullarında patolojik sonuçlar doğurduğu bildirilmektedir.<sup>379</sup> Ekzojen ve görece kısa süreli ROT ve RNT maruziyetinin ise enfeksiyon ve çeşitli hastalıklarla mücadelede oldukça etkin olduğu belirtilmektedir.<sup>379</sup> ABSP ile üretilen ROT ve RNT'ler ökaryot hücrelerde zarar oluşturmaksızın antimikrobiyal etkinlik sağlamakta; hücrede çeşitli sinyal yollarını uyararak biyostimülasyon ve yara iyileşmesi sürecine katkı sağlamaktadır.<sup>379</sup> ABSP ile üretilen reaktif ürünlerin ökaryot hücrelerde zarar oluşturmadan mikroorganizmalar üzerinde seçici etkide bulunduğu çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir.<sup>290, 379</sup> Bu durumun mikroorganizma inaktivasyonu için yeterli plazma dozlarının ökaryot hücrelerde hasar oluşturabilecek dozlardan düşük olması, mikroorganizmaların hücre yapı ve biyokimyasal içeriğinin, hücresel döngü oranlarının ve metabolizmalarının ökaryot hücrelerden farklı olmalarından kaynaklandığı belirtilmektedir.<sup>316</sup> Çalışmamızda ABSP'nin antimikrobiyal etkinliği mikrobiyolojik sonuçlarımızla da gösterilmiş olup kontrol grubunda DOS total TOS'un 1. ayda artarken test grubunda görece azalmıştır. Buna ilave olarak Gİ ve SKY bulgularımız da test grubunda istatistiksel olarak anlamlı daha iyi çıkmıştır. Bu

bulgular ışığında çalışmamızda, ABSP ile üretilen ROT'ların mikroorganizmalar üzerinde seçici etkide bulunduğunu, periodontal dokular üzerine zararlı etkisinin bulunmadığını düşünmekteyiz.

#### **5.4. Mikrobiyolojik Bulguların Tartışılması**

Periodontal hastalığın ana etiyolojisini MDP oluşturmaktadır. Periodontitis teşhisi her ne kadar klinik ve radyolojik bulgularla yapılsa da mikroorganizmaların tespit edilmesi periodontal hastalık tanısını kuvvetlendirmede ve tedavi sonuçlarını değerlendirmede klinisyenlere yardımcı olmaktadır.<sup>13</sup> Bu nedenle çalışmamızda CPT'ye ilave ABSP uygulamasının subgingival MDP içindeki periodontal hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiş spesifik bakteriler (*Aa*, *Pg*, *Tf*, *Td* ve *Fn*)<sup>18, 19, 23, 380, 381</sup> üzerine etkisini değerlendirdik.

Mikrobiyolojik çalışmalarda örneklenecek biyolojik kaynak, örneklerin toplanma şekli, örnekleme stratejisi ve analizinin çalışmadan elde edilecek sonuçlar üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Periodontal hastalığın mikrobiyolojik tanısında tükürük ve subgingival plak örnekleri incelenebilmektedir.<sup>382</sup> Nickles ve ark.<sup>382</sup> subgingival plak örneklerinde belirli periodontopatojenlerin tespit sıklığını tükürük örnekleriyle karşılaştırdıkları ve mikrobiyolojik analizleri PCR ile yaptıkları çalışmada, mikrobiyolojik analiz için subgingival plak örneklerinin toplanmasının belirli mikroorganizmaların tespit edilmesinde daha avantajlı olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda CPT'ye ilave olarak periodontal cep içerisine ABSP uygulamasının olası periodontopatojenler üzerine lokal etkisini inceleyeceğimiz için ayrıca çalışma dizaynımızın splith mouth olması nedeniyle subgingival plak örneklerini toplamayı tercih ettik. Literatür incelendiğinde periodontal hastalık patogenezinin araştırıldığı çalışmalarda mikrobiyal örneklerin olası periodontopatojenlerin kolonizasyonlarının fazla olduğu SCD  $\geq$  5 mm bölgelerden alındığı görülmektedir.<sup>20, 67</sup> Çalışmamızda literatürle uyumlu şekilde çalışma bölgelerindeki SCD  $\geq$  5 mm olan en derin 2 cepten subgingival plak örneği alınmıştır. Persson ve ark.<sup>383</sup> benzer cep derinliğine sahip büyük azı, küçük azı ve keser dişlere ait subgingival plak kompozisyonunda olası periodontopatojenlerin dağılımının benzer olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte Casas ve ark.<sup>82</sup> örnekleme stratejilerinin elde edilen mikrobiyolojik sonuçlar üzerine

olan olası etkilerini inceledikleri araştırmada ağzın farklı bölgelerindeki ceplerden toplanan subgingival plak örneklerinin havuzlanmasının tek bölgeden elde edilecek sonuçlara göre genel profili daha iyi yansıtığı için daha güvenilir olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda rnek toplanması için standart bir diş belirlenmemiş, her grupta en derin iki ayrı cepten örnek toplanmış ve her bölgedeki iki örnek havuzlanarak analizleri yapılmıştır.

Subgingival plak örnekleri kâğıt koni, küret ve diş ipi kullanılarak elde edilebilmektedir. Farklı araçlarla örnek alınması cep içinde örnek alınan bölgenin, toplanan plak miktarı ve kompozisyonunun değişmesine neden olabilmektedir.<sup>384</sup> Kağıt konilerle cebin en derin bölgesine çoğu zaman ulaşılamamakta, subgingival plağın daha koronal ve diş kısmından örnek toplanabilmektedir. Bu da plak örneklerinden elde edilecek mikrobiyal kompozisyonun değişmesine neden olabilmekte ve çalışmadan elde edilecek sonuçları etkilemektedir.<sup>384</sup> Subgingival plak örneklerini kretle toplanmanın, örnek içindeki total bakteri sayısının daha fazla olması, homojen bir dağılım göstermeyen subgingival plaktaki patojen çeşitliliği daha iyi yansıtması ve plağın tüm tabakalarındaki patojenlerin tespitine imkan sağlaması gibi çeşitli avantajları bulunmaktadır.<sup>384</sup> Kretle rnekleme yönteminde toplanacak plak miktarının bireylerde ve örnekleme zamanlarında belirli standardı bulunmayışı ve örneklemede tekrarlanabilir sonuçların elde edilmesinin zor oluşu bu yöntemin dezavantajı olmasıyla birlikte aynı dezavantaj diğer yöntemler için de geçerlidir.<sup>384</sup> Bu nedenle çalışmamızda literatürde oldukça sık kullanılan yöntem olan<sup>44, 385, 386</sup> subgingival plak örneklerinin cebin en derin yerinden küret yardımıyla toplanması tercih edilmiştir.

Subgingival mikroflorayı incelemek amacıyla bakteriyel kültür, direkt mikroskopi, immnodiagnostik metodlar, enzimatik analizler ve moleküler biyoloji teknikleri kullanılmaktadır. Bakteriyel kültür mikrobiyolojik teşhiste altın standart olarak kabul edilmektedir.<sup>84</sup> Bu yöntemin avantajı bakterinin göreceli ve tam sayılarının tespit edilebilmesine imkan sağlaması iken test edilecek bakterilerin canlı olması ve canlılıklarının korunmasının gerekliliği klinisyenler için önemli dezavantaj oluşurmaktadır.<sup>84</sup> Olası periodopatojenlerin büyük bir çoğunluğunu anaerob bakterilerin oluşturduğu düşünüldüğünde uygun anaerobik kültür koşullarının hazırlanması, örnekleme ve transfer işlemlerinin titizlikle gerçekleştirilmesi büyük



önem arz etmektedir. Ayrıca *Treponema* türleri ve *Tf* gibi bazı patojenlerin kültürü oldukça zordur. Seçici olmayan ortam koşullarında anaerobik kültür ile ortalama  $10^3$  –  $10^4$  miktarının altındaki bakteriler tespit edilememekte ve kültür yöntemin duyarlılığı azalmaktadır.<sup>84</sup> Periododontopatojenlerin tespit ve kantitasyonu için çeşitli moleküler teknikler de kullanılmaktadır. Dama tahtası DNA-DNA hibridizasyon tekniği pek çok periodontoloji çalışmasında kullanılmıştır.<sup>44, 340</sup> Bu yöntem plak örneklerindeki birden fazla bakteri türünün araştırılması için oldukça uygun bir yöntemdir. Her bir türden sayıca  $10^4$ 'den fazla hücrenin belirlenebilmesi ve örnek içerisindeki birbirleriyle yakın ilişkideki bakteriyel türlere ait DNA'ların çapraz hibridizasyon yapma olasılığı bu yöntemin dezavantajlarıdır.<sup>84</sup> Gerçek zamanlı PZR ise örnek içinde çok az sayıda olan patojeni belirleyebilen hassas bir yöntem olması, tespit mikroorganizmaların canlı olmaları gerekmediği için örnekleme ve taşıma esnasında fazla hassasiyet gerektirmemesi, görece pahalı bir yöntem olması yanında hızlı ve uygulaması nispeten kolay olması nedeniyle periodontal mikroorganizmalar için ideal tespit yöntemi olma potansiyeli taşımaktadır.<sup>83, 84</sup> Bizim çalışmamızda da çalışılacak mikrobiyolojik örneklerin saklama koşullarında sağladığı kolaylık, hızlı, hassas ve nicel değerler elde edilebilmesinden dolayı gerçek zamanlı RT-PZR tekniği tercih edildi.

MDP esas olarak mikroorganizmalar ve ESM'den oluşmaktadır. MDP, toplam kütlelerinin büyük kısmını suyun oluşturduğu, tükürük, DOS, bakteri ve ürünlerine ilave kalsiyum, fosfor, sodyum, potasyum ve flor gibi inorganik bileşenleri, glikoproteinler, polisakkaritler, proteinler ve lipitler gibi organik bileşenleri bulunan karmaşık bir yapıdır.<sup>13</sup> Subgingival mikroflora dinamik bir popülasyondur. Zamanla ve çok sayıdaki faktörün etkisiyle hem ESM'nin içeriğinde hem de bakteriyel kompozisyonda sürekli değişim gerçekleşmektedir. Bununla birlikte biyofilm yapısı hem kendi içinde hem de farklı bölgelerde heterojen bir yapı göstermektedir.<sup>13</sup> Analiz için toplanan subgingival plak toplam miktarının standart olmayışı mikrobiyolojik inceleme yapan araştırmalarda en önemli sınırlayıcı faktördür.<sup>384</sup>

Hem biyofilmin kendi içinde hem de mikrobiyal örnek toplama işleminde standart bulunmadığından çalışmamızda, toplanan subgingival plak örneklerinin eşit miktarda fosfat tampon ile sulandırılarak nükleik materyal izolasyonu yapılması, subgingival plak örneklerinin aynı tip küretle ve tek bir kişi tarafından toplanması ile örnekleme mümkün olduğunca standart hale getirilmeye çalışılmıştır.

Gerçek zamanlı PZR, örnek içindeki bakterinin tam, nicel sayısını vermede oldukça avantajlı bir yöntemdir. Ancak örnek içindeki bakteri kompozisyonunun çeşitli olduğu ve her örnekte homojen bir dağılım görülemeyen örnekleme bölgelerinden (subgingival plak, barsak florası vb.) toplanan plak örneklerinin mikrobiyolojik analizinde gerçek zamanlı PZR metodu kullanıldığında bakterilerin kesin sayısının verilmesi yerine göreceli miktarlarının belirlenmesinin daha uygun olacağı belirtilmektedir.<sup>387</sup> Literatürde gerçek zamanlı RT-PZR metodu kullanılarak seçilmiş mikroorganizmaların total bakteri miktarına oranlanıp, normalizasyonun sağlandığı ve mikroorganizmaların göreceli miktarlarını sunan çalışmalar bulunmaktadır.<sup>388-390</sup> Bizim çalışmamızda da seçtiğimiz olası periodontopatojenlerin toplam bakteri miktarına göreceli değişimi yani normalizasyonu sağlanarak standardizasyon oluşturulmaya çalışılmış, subgingival plak örneklerimizin analiz sonuçları Livak ve ark.'nin<sup>274</sup>  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  metoduyla değerlendirilmiştir.

Periodontal hastalık etiyojisini araştırmaya yönelik çalışmalarda özellikle belirli bir kaç olası periodontopatojen ve onların virülans faktörlerinin periodontal hastalıkla yakın ilişkide bulunduğu gözlemlenmiştir. Kronik periodontitis hastalarına ait subgingival plak örneklerinde sağlıklı bireylere göre artmış *Aa*, *Td*, *Pg*, *Tf*, *Fn* seviyeleri bulunduğu gösterilmiş<sup>19</sup> bununla birlikte etkili bir CPT sonrası subgingival plak bakterileri miktarında azalma ve kompozisyonunda gram (-) bakterilerden gram (+) bakterilere değişim olduğu<sup>165</sup> olası periodontopatojenlerin subgingival plaktaki miktarının ve bulunma oranının azaldığı da belirtilmiştir.<sup>391</sup> Biz de çalışmamızda sadece CPT ve CPT'ye ilave ABSP uygulamasının subgingival plak ekosisteminde periodontal hastalıkla ilişkili olabileceği gösterilmiş olası periodontopatojenlerden *Aa*, *Pg*, *Tf*, *Td* ve *Fn* üzerine olan etkilerini inceledik.

Socransky ve ark.<sup>19</sup> MDP içerisindeki konumlarını göz önüne alarak *Pg*, *Tf* ve *Td*'yi kırmızı kompleks bakterileri olarak tanımlamış ve bu bakterilerin periodontal hastalık şiddetiyle yakın ilişki gösterdiğini belirtmiştir. *Pg*, *Tf* ve *Td*'nin kolonizasyonları ve biyofilmdeki varlıkları birbirleriyle sıkı ilişkide bulunmaktadır. *Td* ve *Tf*'nin *Pg*'nin kolonizasyonuna öncülük ettiği,<sup>63,70</sup> *Pg* ve *Td*'nin virülanslarının hastalık oluşumunda sinerjik hareket ettiği<sup>73</sup> ve bu üç bakterinin birlikteliğinde oluşan

hastalık şiddetinin *Pg*, *Tf* ve *Td*'nin tek başına oluşturdukları hastalık şiddetinden daha fazla olduğu<sup>74</sup> gösterilmiştir.

Etkili bir CPT sonrası kırmızı kompleks bakterilerde azalma sağlandığı Sağlam ve ark. tarafından gösterilirken<sup>385</sup>, CPT sonrası kırmızı kompleks bakteriler üzerine etkin olunmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur.<sup>392, 393</sup> Çalışmamızın sonuçlarına baktığımızda, kontrol grubunda, CPT'den sonraki 1. ayda kırmızı kompleks bakterilerde azalma sağlandığı görülmektedir. Bununla birlikte istatistiksel olarak anlamlı fark görülmesi de başlangıca göre 3. ayda *Tf*'de azalma sağlandığı ancak *Pg* ve *Td*'de artış meydana geldiği gözlenmektedir. Soeroso ve ark.<sup>392</sup> sadece CPT uygulamasının CPT'den sonraki ilk 2 ay *Pg*, *Tf* ve *Td*'yi azaltmada etkin olduğunu ancak 2. aydan sonra rekolonizasyonun görülmeye başlandığını bildirmiş, CPT'den 6 ay sonra ise *Td* ve *Tf* seviyelerinin başlangıç seviyelerinden yüksek bulunduğunu göstermişler, CPT'nin bakterilerde geçici bir azalma sağladığını ancak tek başına bu üç bakterinin tekrar kolonize olmasını önleyemediğini belirtmişlerdir. Bununla birlikte Eick ve ark.<sup>394</sup> CPT'ye iyi cevap alınmayan orta ve şiddetli periodontitise sahip hastalarda CPT sonrası *Pg* seviyelerinde azalma sağlanamadığını ayrıca *Pg*'nin başlangıçta ve tedavi seanslarında varlığının gösterilmesinin periodontal hastalığın tedavisinde elde edilecek cevabın belirlenebilmesinde önemli olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte Haffaje ve ark.<sup>27</sup> ise CPT sonrası klinik parametrelerde yeterli azalma sağlanamayan hastalara kıyasla CPT'ye iyi cevap alınan hastaların subgingival plak örneklerinde başlangıçta *Td* seviyelerinin yüksek bulunduğunu ve *Td*'nin tedavi sonrası anlamlı derecede azaldığını göstermiştir.

Çalışmamızın bulgularına baktığımızda kontrol grubunda CPT sonrası 1. ayda kırmızı komplekse ait olası periodontopatojenlerde azalma sağlandığı, 3. ayda CPT'nin *Td* üzerinde hala etkinken *Tf* ve *Pg* üzerine etkisinin kaybolduğu ve başlangıç seviyelerine göre artış olduğu gözlenmektedir. Bu durumun muhtemelen, *Tf* ve *Pg*'nin dentin tübüllerine penetrasyon, diş eti epiteline invazyon gerçekleştirmiş olmasından ve derin ceplerde bu mikroorganizmaların sadece mekanik tedavi ile tam olarak elimine edilememesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Zijngel ve ark.<sup>63</sup> biyofilmin ESM'sini bozmaksızın plak içerisindeki bakterilerin yerlerinin tespit edilmesini sağlayan floresan in situ hibridizasyon

teknikini kullanarak *Pg*, *Tf* ve *Td*'nin epitele yakın komşulukta birlikte bulunduğunu göstermiş olup, bu türlerin kolonizasyonlarının birbirlerine ve *Fn*'ye bağlı olduğunu da belirtmiştir. Çalışmamızın bulgularına baktığımızda kontrol grubunda *Td*'de sağlanan azalmanın 1. aya göre 3. ayda daha fazla olduğu görülmektedir. Bu durum, yapısı mekanik olarak bozulan plak biyofilminin cep içinde tekrar oluşurken rekolonize olan *Pg*, *Tf* ve *Td* arasında koagregasyon ve besin eldesinde kurdukları ilişkinin ve bu üç bakterinin cep içerisinde yeniden kurmaya çalıştıkları dengenin sonucu olabilir.

Lazar ve ark.<sup>393</sup> tek başına CPT uygulamasını, CPT'ye ilave lokal antiseptik ve sistemik antimikrobiyal uygulamalarıyla kıyasladıkları ve subgingival plak örneklerini PCR yöntemi ile analiz ettikleri çalışmada CPT'nin klinik parametreler üzerine etkili olmakla birlikte subgingival plak örneklerinde olası periodontopatojenlerden *Aa*, *Pg*, *Tf*, *Td* ve *Pi* üzerinde etkili olmadığını göstermiş, bu durumun muhtemel nedeni olarak derin ceplerde ve/veya doku içerisinde bulunan mikroorganizmalar üzerine mekanik tedavinin yetersiz olabileceğini söylemiş, CPT'nin ilave antimikrobiyal uygulamaları ile desteklenmesi gerektiğini bildirmişlerdir<sup>393</sup>. Çalışmamızda CPT'ye ilave ABSP uygulamasının CPT sonrası hem 1. ayda hem de 3. ayda kırmızı kompleks bakterilerde azalma sağladığını görmekteyiz. CPT'ye ilave ABSP uygulamasını sadece CPT yapılan kontrol grubuyla karşılaştırdığımızda, gruplar arasında 1. ayda *Td*, 3. ayda *Pg* ve *Tf* üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğu da görülmektedir. Buradan CPT'ye ilave ABSP uygulamasının kırmızı kompleks bakteriler üzerine etkili olduğunu söyleyebilmekteyiz.

ABSP'nin hem planktonik formda hem de biyofilm içerisindeki çeşitli mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkide bulunduğu bilinmektedir.<sup>3</sup> ABSP'nin kırmızı komplekse ait olası periodontopatojenler üzerine etkisini inceleyen sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Xiong ve ark.<sup>250</sup> ABSP jeti ile üretilen nötral partiküllerin, *Pg* biyofilminin derin katmanlarına kadar ulaşabildiğini ve *Pg* inaktivasyonu yaptığını göstermiştir. Shi ve ark.<sup>324</sup> köpeklerde alt çene premolar dişlerin çekiminden 3 ay sonra iyileşmiş çekim bölgelerine implant yerleştirmişler ve implantasyondan sonraki 3. ayda ligatürleme yaparak periimplantitis oluşturmuşlardır. %40 alveol kemik kaybı gözlenen implantlardan ligatürler çıkarılarak mekanik debridman yapılmış, klorheksidin irrigasyonu uygulanmış ardından split mouth

dizaynda, seçilmiş test bölgesine ilave tek sefer ABSP uygulaması yapılmıştır. Klinik verilerin ve mikrobiyolojik örneklerin toplanması ligatür çıkarılmadan önce, çıkarıldıktan 1, 2 ve 3 ay sonra gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonunda ilave ABSP uygulanan test grubunda sadece mekanik debridman yapıp klorheksidin uygulanan kontrol grubuna kıyasla daha iyi klinik ve mikrobiyolojik sonuçlar elde edildiği, ABSP'nin *Pg* ve *Tf* üzerine istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma sağladığı ancak *Aa* üzerinde tedavi sonrası seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla az olmakla birlikte sadece 1. ayda istatistiksel farklılık bulunduğunu da bildirmiştir<sup>324</sup>. Her ne kadar periimplantitis, periodontitisten çeşitli yönlerle ayrılrsa da periimplantitis florasında periodontal hastalık gelişiminde sorumlu olan olası periodontopatojenlerden *Td*, *Tf* ve *Pg*'nin baskın olduğu yakın zamanda yayınlanan bir meta-analizde gösterilmiştir.<sup>395</sup> Bu literatür bilgileri ışığında çalışmamızın bulgularına baktığımızda CPT'ye ilave ABSP uygulamasının *Tf*, *Td* ve *Pg* üzerine etkili olduğu ve CPT'nin etkinliğini arttırdığını söyleyebiliriz.

Haffajee ve ark.<sup>27</sup> KAS'da kazanç sağlanan hastalarda *Tf*, *Td* ve *Pg*'nin CPT sonrası anlamlı derecede azaldığını ve kırmızı kompleks bakterilerin periodontal tedavi sonuçlarını etkileyen önemli bakteriler olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızın klinik bulgularına döndüğümüz zaman kontrol grubunda 1. ay ile 3. ay arasında KAS'da kayıp yaşandığı görülmektedir. Ayrıca SCD, Gİ, SKY değerlerinde 1 ila 3. ay arasında test grubunda azalma devam ederken kontrol grubunda değişim olmadığı gözlenmektedir. Kontrol grubunda klinik parametrelerde gözlenen bu durumun sadece CPT uygulaması ile kırmızı kompleks bakterilerde yeterli eliminasyon sağlanamaması ve cep içerisinde kalan bu bakterilerin tekrar kolonize olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Nitekim çalışmamızın korelasyon sonuçlarını incelediğimizde test grubunda örnek alınan dişlere ait SCD, KAS, Gİ ve SKY değerleri ile kırmızı komplekse ait *Td*, *Tf* ve *Pg* arasında pozitif yönde değişen güçte korelasyon bulunduğu görülmektedir. Kırmızı komplekse ait bakterilerin periodontal hastalık parametrelerinden SKY ve Gİ ile yakın ilişkide olduğu çok sayıda çalışmada gösterilmiştir.<sup>20,27</sup> Kırmızı komplekse ait bakteriler çeşitli proteazlar üreterek konak epitel ve bağ dokusu yapılarını parçalayabilmektedir. Bu da periodontal dokularda ataşman kaybı yanında aktif enflamasyon gelişmesine neden olmaktadır.<sup>47</sup> Kırmızı kompleks bakterilerin CPT sonrası iyileşmeyen periodontal ceplerden sıklıkla izole

edilmesi, onların periodontal tedavi sonuçlarını etkileyen önemli olası periodontopatojenler olduklarını göstermektedir.<sup>27</sup> Nitekim çalışmamızda *Td*, *Tf* ve *Pg* ile kontrol grubunda tedavi edilen  $\geq 5$  mm tüm ceplere ait KAS değerleri arasında ayrıca *Td*, *Tf* ve *Pg* ile test grubunda tedavi edilen  $\geq 5$  mm tüm ceplere ait SCD ve KAS değerleri arasında korelasyon bulunması, kırmızı kompleks bakterilerin periodontal hastalık gelişiminde olduğu kadar CPT sonuçları üzerine de etkili, önemli olası periodontopatojenler olduğu literatür bilgisiyle uyumludur.

Çalışmamızda sadece CPT uygulamasının subgingival bakteri sayısını azaltmada kısmen başarılı olduğu ancak *Aa* üzerinde yeterli etkinliğe sahip olmadığını görmekteyiz. Haffajee ve ark.<sup>308</sup> yaptıkları çalışmada CPT'nin kırmızı kompleks bakterilerde azalma sağladığını bildirmekle birlikte *Aa* üzerine etki göstermediğini bildirmiştir. Bununla birlikte Renvert ve ark.<sup>396</sup> da CPT'nin *Aa* üzerine etkisi olmadığını bildirmiş *Aa*'nın cep içerisindeki varlığını azalmış iyileşme cevabı ile ilişkilendirmişlerdir. Bununla birlikte Darby ve ark.<sup>397</sup> yaptıkları çalışmada CPT sonrası *Aa* seviyelerinde sağlanan azalmanın diğer olası periodontopatojenlere kıyasla daha düşük olduğunu göstermişlerdir.

Literatürde CPT'nin *Aa* üzerine etkin olamamasının bir nedeni olarak *Aa*'nın epitele invazyon yapması gösterilirken ağızdaki diğer rezervuar bölgelerden kaynaklanabilecek bulaşma sonucu tekrar kolonize olabildiği de düşünülmektedir.<sup>165</sup> Colombo ve ark.<sup>386</sup> Brezilya'da tedavi edilmemiş KP'li hastalarda subgingival plak örneği alınan bölgelerin % 41'inde *Aa*'nın saptandığını, sağlıklı bireylerde ise bu oranın %25 olduğunu bildirmiş aynı grup araştırmacı başka çalışmalarında KP'li hastalarda CPT sonrası *Aa* seviyelerinde başlangıç seviyelerine göre artış olduğunu da göstermişlerdir.<sup>398</sup> Bu durumun muhtemel sebebi olarak başlangıçta *Aa* seviyeleri yüksek bireylerde CPT ile *Aa*'nın tam olarak elimine edilememesinden ve ağız içindeki başka bölgelerden *Aa* geçişi olabilmesinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.<sup>398</sup> Çalışmamızda sadece CPT uygulamasının *Aa*'yı azaltmada etkisiz olmasını, literatürde yapılan yorumlar ışığında, muhtemelen derin ceplerde tam olarak elimine edilememiş *Aa* bulunması, kırmızı komplekse ait bakterilerde olduğu gibi *Aa*'nın diş etine invazyon yapmış olabilmesi ve ağız içindeki başka bölgelerden cep içerisine *Aa* geçişiyle ilişkilendirmekteyiz.

Brown ve ark.<sup>399</sup> sakkarolitik bir bakteri olan *Aa*'nın büyümesi ve biyosentezi için gerekli karbon ihtiyacını streptokokların ürettiği laktattan sağladığını göstermiştir. Streptokoklar karbonhidratları fermente ederken yüksek oranda laktat üretirler. Periodontal cep içerisinde yüksek laktat birikimi negatif geri bildirim mekanizması ile sınırlanarak streptokokların ürettiği laktat, pürivat ve mikroorganizmalar için oldukça toksik etkileri bulunan hidrojen peroksit dönüşmektedir. *Aa*'nın cep içerisindeki laktat seviyelerini düşürerek bu sayede kendisini de hidrojen peroksitin toksik etkisinden koruduğu düşünülmektedir. Bulgularımızda kontrol grubunda *Aa* seviyelerinde görülen artış; CPT sonrası cep derinliklerinin azalması ile *Aa* ile streptokok bakteriler arasındaki besin ilişkisinde *Aa*'nın türünün devamlılığını sağlayacak çevresel uyumu yakalamış olması ve bu sayede cep içerisinde yeniden kolonize olabilmesinden de kaynaklanabilir.

Bununla birlikte *Aa* seviyelerinin her iki çalışma grubunda da CPT'den hemen sonra azalmış olması olasılık dahilindedir. Çalışmamızda kontrol grubunda CPT sonrası 1. ve 3. ayda cep içerisinde tekrar kolonize olan *Aa*'nın sadece CPT uygulaması başlangıçta yeteri kadar azaltılamaması ile ilişkilendirmekteyiz. Test grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte, başlangıca göre 1. ve 3. ayda *Aa*'nın azaldığı görülmektedir. ABSP'lerin planktonik ve biyofilm formundaki bakteriler üzerine etkin olduğu ayrıca hücre içi yerleşim gösteren mikroorganizmaların inaktivasyonunu da sağladığı bilinmektedir.<sup>3</sup> Ermolaeva ve ark.<sup>400</sup> epitel, endotel ve makrofajların içine invazyon gösterebilen, gram (-), zorunlu anaerob bir bakteri olan *Chlamydia Trochomatis* üzerine ABSP'nin etkisini inceledikleri in vitro çalışmada ABSP'nin hücre içindeki *Chlamydia Trochomatis* üzerine antimikrobiyal etkinlikte bulunduğunu göstermiştir. Literatürde epitel içine invazyon göstermiş *Aa* üzerine ABSP'nin etkinliği gösteren çalışma olmamakla birlikte Abonti ve ark.<sup>401</sup> yaptıkları in vitro çalışmada ABSP jeti'nin *Aa*'yı azaltmada etkin olduğunu, *Aa*'nın aynı süre ve uygulama mesafesindeki ABSP uygulamasına gram (+) bakterilerden daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte Shi ve ark.<sup>324</sup> da köpeklerde yaptıkları deneysel periimplantitis çalışmasında, mekanik debridman ve klorheksidin uygulamasına ilave ABSP uygulaması ile tedavi sonrası 1. ayda *Aa* üzerinde anlamlı azalma sağlandığını, kontrol grubunda *Aa*'nın 3. ayda başlangıç seviyelerine dönerken, ilave ABSP uygulanan grupta başlangıca göre düşük seviyelerde kaldığını

göstermiştir. Nitekim çalışmamızda gruplar arasında istatistiksel farklılık görülmemekle birlikte CPT'ye ilave ABSP uygulamasının *Aa* üzerine etkin olduğu görülmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonucun muhtemelen ABSP'nin hem biyofilm içindeki hem de epitele invazyon yapmış *Aa* üzerinde inaktivasyon sağlamış olabilmesi ve *Aa*'nın rekolonizasyonunu azaltmış olabilmesinden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

*Fn*'nin periodontal hastalıkta seviyelerinin arttığını<sup>19</sup> ve CPT sonrası azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur.<sup>402, 403</sup> Bununla birlikte pek çok çalışmada *Fn*'nin CPT sonrası arttığı da gösterilmiştir.<sup>309, 398, 404</sup> Çalışmamızda da ise CPT'den 1 ve 3 ay sonra *Fn*'nin başlangıç seviyelerinden yüksek bulunduğu görülmektedir. Periodontal cep içerisinde MDP bakterileri arasında dinamik bir etkileşim bulunmaktadır. Daha önce bir çok araştırmacı *Fn*'nin erken kolonizerler ile geç kolonizerler arasında köprü görevi üstlendiğini ve olası periodontopatojenlerin, özellikle de kırmızı kompleks bakterilerin cep içinde kolonizasyonuna aracılık ettiği belirtmiştir.<sup>78, 79, 405</sup> *Fn*'nin yaşamını devam ettirebilmesi için agregasyon ve koagregasyon yapabilmesi oldukça önemlidir. Gürsoy ve ark.<sup>405</sup> anaerobik koşullarda üretilen *Fn* biyofilminin aerobik koşulları tolere edebildiğini göstermiş, bu durumun muhtemel nedeni olarak *Fn*'nin aerobik koşullarda agregasyon yaparak biyofilm içinde yaşayabileceği uygun koşulları yaratmasına ve diğer anaerobların koagregasyonunun *Fn*'yi oksidatif hasardan korumasına bağlı olabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda hem test hem de kontrol grubunda, istatistiksel olarak anlamlı fark görülmesi de, başlangıca göre 1. ve 3. ayda *Fn*'de artış gözlenmiştir. Bu durumu CPT ile yapısı mekanik olarak bozulmuş MDP'nin cep içerisinde yeniden oluşum sürecinde, *Fn*'nin diğer olası periodontopatojenlerden daha erken kolonize olmasına ve *Fn*'nin, cep derinliklerinin azalmasıyla birlikte değişen ekosisteme kolonizasyon yeteneği sayesinde uyum sağlıyor olmasına bağlayabiliriz.

*Fn*'nin MDP organizasyonunda rolü olduğu kadar mukozal epitelyal hücre ile ilişkili biyofilm oluşumunu düzenleyici role sahip olduğu da belirtilmektedir.<sup>406</sup> Şöyle ki *Fn* insan oral epitel hücrelerine direkt olarak bağlanabilmekte ve epitel yüzeyinde kolonize olmaktadır.<sup>407</sup> *Fn*'nin kendisi antimikrobiyal bir peptid olan  $\beta$ -defensine karşı direnç geliştirmiş olmakla birlikte epitel hücrelerinin  $\beta$ -defensin üretimini tetiklediği böylece mukozal yüzeydeki mikrobiyal ilişkiyi düzenleyerek fırsatçı bakterilerin aşırı



kolonizasyonu önlediği ayrıca *Pg* gibi ekzojenik patojenlerin epitele invazyonunu önlediği bilinmektedir.<sup>406</sup> Bununla birlikte *Fn*'nin deri, soluk borusu ve bağırsak epitelinde sadece enfeksiyon ve enflamasyon varlığında artan, oral epitelde ise enflamasyonun olmadığı normal şartlarda da yüksek seviyelerde bulunan  $\beta$ -defensin 2'nin üretimini Nf- $\kappa$ B yolağından bağımsız, enflamasyona yol açmaksızın tetiklediği, epitel hücrelerini savunma durumuna hazır hale getirdiği belirtilmektedir.<sup>406</sup> Nitekim *Fn*'nin periodontal olarak sağlıklı bölgelerde de hastalıklı bölgelere yakın seviyelerde tespit edilmesi<sup>79</sup>, *Fn*'nin ağız florasında bulunan, sağlıklı ilişkili floranın devamlılığında önemli rolü olan ayrıca oral epitel hücrelerinin doğal immün cevabı ile simbiyotik ilişkide olabilecek bir mikroorganizma olduğunu göstermektedir.<sup>406</sup> Çalışmamızda CPT sonrası her iki grupta da, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, *Fn*'nin artış göstermesi, *Fn*'nin CPT sonrası bozulan MDP içinde yeniden kolonize olurken yukarıda da belirttiğimiz üzere konak doğal immün cevabı ile muhtemel ilişkisinden kaynaklanan, kendi türünün devamlılığını sağlıyor oluşu ile açıklanabilir.

Bununla birlikte çalışmamızda CPT'den sonra, kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla *Fn* artışı olduğu da görülmektedir. Kontrol grubunda diğer olası periodontopatojenlerin de arttığını ayrıca *Fn*'nin koagregasyonda köprü görevi üstlendiğini düşündüğümüzde, test grubuna göre kontrol grubunda gözlenen bu farklılık, diğer olası periodontopatojenlerdeki artış ile *Fn*'nin rekolonizasyonu arasındaki sıkı ilişkiden kaynaklanmış olabilir. Nitekim çalışmamızda tüm mikroorganizmalar arasında pozitif yönde güçlü korelasyon bulunması bu fikrimizi destekler niteliktedir. Çalışmamızda CPT'ye ilave ABSP uygulamasının 1. ve 3. aylarda kontrol grubuna göre daha az *Fn* artışına neden olduğu görülmektedir. Bununla birlikte ABSP'nin kırmızı kompleks bakteriler ve *Aa* üzerine etkili olduğu ve cep içerisinde rekolonizasyonu geciktirdiği de bulgularımızda gösterilmiştir.

Literatürde ABSP uygulamasının insan keratinosit hücrelerinden  $\beta$ -defensin üretimini arttırdığı, özellikle de  $\beta$ -defensin 2 üzerine etkili olduğu in vitro olarak gösterilirken, aynı çalışmanın in vivo kısmında farelerde traş edilmiş sağlam deri üzerine 5 gün boyunca günlük 2 dk.'lık ABSP uygulamasının fare epidermisinde  $\beta$ -defensin 2 artışına yol açtığı gösterilmiştir.<sup>408</sup> Araştırmacılar ABSP'nin antimikrobiyal peptidlerin aktivasyonunu sağlayarak, antiseptik özellik

gösterebileceğini belirtmişlerdir.<sup>408</sup> Çalışmamızda test grubunda ABSP'nin, konağın antimikrobiyal peptid üretimini tetikleyerek cep epitelini mikrobiyal saldırıya karşı güçlendirmiş olabileceğini, bu sayede olası periodontopatojenler üzerinde endirekt olarak da antimikrobiyal etki oluşturmuş olabileceğini düşünmekteyiz. ABSP, diğer olası periodontopatojenlerin koagregasyonundan fayda sağlayan *Fn*'nin kolonizasyonunu, diğer olası periodontopatojenleri inaktive ederek direkt olarak; ayrıca konağın antimikrobiyal peptid üretimini arttırıp endirekt olarak azaltmış olabilir.

Çalışmamızın mikrobiyolojik bulgularını topladığımızda CPT'ye ilave ABSP uygulamasının kontrol grubuna kıyasla, kırmızı kompleks bakteriler ve *Aa* üzerine antimikrobiyal etki sağladığı ve *Aa*, *Pg*, *Tf* ve *Fn*'nin rekolonizasyonunu geciktirdiği görülmektedir. Literatürde CPT'den sonraki 2. ayda rekolonizasyon görüldüğünü gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur.<sup>177, 309, 392, 402</sup> CPT, KP'nin tedavisinde cep derinliklerini ve klinik enflamasyonu azaltmada oldukça başarılı bir yöntem olmasına rağmen tek başına CPT uygulaması olası periodontopatojenler üzerinde geçici bir azalma sağlamak ve kısa sürede rekolonizasyon görülmektedir.<sup>165</sup> Araştırmacılar hem CPT'nin etkinliğinin arttırılması hem de rekolonizasyonun geciktirilerek hasta seanslarının azaltılması amacıyla CPT' nin ilave antimikrobiyal uygulamalar ile desteklenmesi gerektiğini vurgulamaktadırlar.<sup>165</sup> Çok sayıda araştırmacı CPT'ye ilave antimikrobiyal etkinliği bulunan çeşitli uygulamalar ile rekolonizasyonun geciktirildiğini göstermişlerdir.<sup>302, 351, 402</sup> Nitekim çalışmamızın mikrobiyolojik bulgularına baktığımızda kontrol grubunda 3. ayda *Aa*, *Pg*, *Tf* ve *Fn*'nin cep içerisinde tekrar kolonize olurken antimikrobiyal etkinliği çok sayıda çalışmada gösterilmiş olan ABSP'nin<sup>248</sup> CPT'ye ilave uygulamasının rekolonizasyonu geciktirmede başarılı olduğu görülmektedir. Çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla CPT'ye ek olarak uygulanan ABSP'nin, başlangıçta daha fazla olası periodontopatojen inaktivasyonu yapmış olması, hücre içine invazyon yeteneği bulunan patojenler üzerinde de etkinlik sağlamış olmasıyla direkt olarak; dentin yüzeyinde muhtemel bir yüzey modifikasyonu gerçekleştirmiş olması ve kontakta çeşitli antimikrobiyal peptid üretimini arttırarak olası periodontopatojenlerin üremesini engellemiş olabilmesiyle endirekt olarak rekolonizasyonu azaltmış ve/veya geciktirmiş olabileceğini düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışmanın sınırları içerisinde, CPT'ye ilave ABSP uygulaması ile kontrol grubuna kıyasla, Gİ ve SKY'de daha fazla azalma saptandı ( $p<0.05$ ).

2- Çalışmamızda SCD ve KAS değerlerinde test grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla değişim meydana geldiği, CPT ile eş zamanlı tek sefer ABSP uygulamasının yalnızca CPT uygulamasına göre klinik parametrelerde daha fazla iyileşme sağladığı görüldü.

3- CPT'ye ilave dekontaminasyon amacı ile uygulanan ABSP'nin subgingival plak örnekleri içerisindeki olası periodontopatojenlerden özellikle kırmızı komplekse ait bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkide bulunduğu ve *Aa*, *Pg*, *Tf* ve *Fn*'nin cep içerisinde rekolonizasyonu geciktirdiği gözlemlendi.

4- ABSP'nin biyokimyasal belirteçler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi görülmedi. ABSP'nin biyokimyasal belirteçler üzerindeki etkisini periodontal dokulardaki iyileşmenin daha erken sonuçlarını inceleyerek değerlendiren ilave çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

5- CPT'ye ilave dekontaminasyon amacı ile uygulanan ABSP'nin hastalar tarafından iyi tolere edildiği, herhangi bir komplikasyona ve yan etkiye neden olmadığı gözlemlendi. Çalışmamızdan elde edilen bulgular ışığında CPT'ye ilave ABSP uygulamasının CPT'nin etkinliğinin artırılmasında güvenli bir şekilde kullanılabileceğini ve CPT'ye ilave ABSP uygulamasının hastaların cerrahi periodontal tedaviye ihtiyacının azaltılmasında fayda sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

6- Çalışmamız CPT'ye ilave olarak ABSP kullanılan ilk klinik çalışmadır. Çalışmamızda kapsamlı klinik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik değerlendirme yapılmıştır. Çalışmamızın sonuçları biyokimyasal bulgularımıza yeterince yansımadağı görülmekle birlikte CPT'ye ilave olarak ABSP uygulamasının periodontal klinik parametrelerde ve olası periodontopatojenler üzerinde etkili olduğu, CPT sonrası kısa dönem sonuçlar incelenerek ortaya konulmuştur. Bununla birlikte konuyla ilgili ABSP'nin uzun dönem etkilerini inceleyen, daha geniş hasta

popülasyonunda yapılmış, çok merkezli, randomize, kontrollü klinik ilave çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

7- Çalışmamızda ABSP'nin rekolonizasyon üzerine etkisi, direkt olarak mikroorganizma inaktivasyonu yapmasının yanında in vitro çalışmalarda gösterildiği üzere muhtemel bir dentin yüzey modifikasyonu gerçekleştirmiş olabileceği ayrıca konakta çeşitli antimikrobiyal peptid üretimini tetikleyerek olası periodontopatojenlerin üremesini endirekt yolla engellemiş olabilmesiyle ilişkilendirildi. Ancak ABSP'nin dentin yüzeyinde ne gibi etkileri olduğu ve bu olası etkilerin periodontal cebin iyileşmesini nasıl etkilediğiyle ilgili klinik bir çalışma bulunmamaktadır. Bu konuyla ilgili ilave in vivo ve klinik çalışmalar yapılarak bulgularımızın desteklenmesi gerekmektedir.

***KRONİK PERİODONTİTİS HASTALARINDA CERRAHİSİZ PERİODONTAL TEDAVİYE İLAVE ATMOSFERİK BASINÇLI SOĞUK PLAZMA KULLANIMININ KLİNİK, BİYOKİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİ***

**ÖZET**

Bu klinik çalışmada; cerrahisiz periodontal tedaviye ilave olarak cep içi dekontaminasyonda yeni bir yöntem olabilecek Atmosferik Basınçlı Soğuk Plazma (ABSP) uygulamasının etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmaya sistemik olarak sağlıklı, 25 kronik periodontitis hastası dahil edildi. Split-mouth dizaynda, randomize olarak seçilmiş test bölgesine cerrahisiz periodontal tedavi (CPT)'ye ilave cep içine atmosferik basınçlı soğuk plazma uygulaması, kontrol bölgesine plasebo uygulama yapıldı. Hastaların klinik periodontal kayıtları, diş eti oluşu sıvısı ve subgingival plak örnekleri tedaviden önce ve tedavi sonrası 1. ve 3. aylarda alındı. DOS interlökin-1beta, interlökin-10, matriks metalloproteinaz-8, vasküler endotelial büyüme faktörü biyokimyasal analizinde enzimle işaretlenmiş immünosorbent testi, total oksidan ve antioksidan seviyeyi belirlemede kolorometrik yöntem kullanıldı. Subgingival plak örneklerinde *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* ve kırmızı kompleks bakterilerin analizi polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle gerçekleştirildi.

İstatistiksel analizler sonucunda her iki çalışma grubunda da klinik periodontal parametrelerde iyileşme kaydedildi ( $p<0,05$ ). Bununla birlikte kontrol grubuna kıyasla test grubunda gingival indeks ve sondlamada kanama yüzdesinde 1. ve 3. ayda daha fazla azalma saptandı ( $p<0,05$ ). Ayrıca 1. aydan 3. aya sondalama cep derinliği ve klinik ataşman seviyesi test grubunda istatistiksel olarak anlamlı daha fazla değişim gösterdi ( $p<0,05$ ). Biyokimyasal belirteçler açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmazken ( $p>0,05$ ), ABSP'nin kontrol grubuna kıyasla kırmızı komplekse ait bakterilerde daha fazla inaktivasyon yaptığı ( $p<0,05$ ) ve olası periodontopatojenlerin cep içerisinde rekolonizasyonunu geciktirdiği gözlemlendi.

Çalışmamızda CPT ile eş zamanlı, ilave tek sefer ABSP uygulamasının olası periodontopatojenler üzerine etkili olduğu, rekolonizasyonu geciktirdiği ve klinik parametrelerde daha fazla düzelme sağlayarak periodontal cebin iyileşmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Konuyla ilgili geniş popülasyonda yapılmış, uzun dönem

sonuçları inceleyen ilave çalışmalarla da desteklenerek; ABSP'ler periodontal cep içi dekontaminasyonunda rutin uygulamada güvenle kullanılabilir.

**Anahtar kelimeler:** Soğuk plazma, periodontitis, periodontal cep, antienfektif ajan, biyofilm.



***EFFECT OF ADJUNCTIVE ATMOSPHERIC PRESSURE COLD PLASMA APPLICATION ON CLINICAL, BIOCHEMICAL AND MICROBIOLOGIC PARAMETERS IN NON-SURGICAL PERIODONTAL TREATMENT OF CHRONIC PERIODONTITIS PATIENTS***

**SUMMARY**

In this clinical study, we aim to evaluate the effectiveness of APCP, which is a novel procedure used in periodontal pocket decontamination adjunctive to non-surgical periodontal treatment.

The study included 25 chronic periodontitis patients who were systemically healthy. In the split-mouth design, atmospheric pressure cold plasma application into the pockets in addition to non-surgical periodontal therapy (NSPT) for the randomized test area; placebo treatment was given to the control area. Clinical periodontal recordings, gingival fluid and subgingival plaque samples of patients were taken before and during the first and third months of treatment. GCF interleukin-1beta, interleukin-10, matrix metalloproteinase-8, vascular endothelial growth factor biochemical assays were performed using enzyme-labeled immunosorbent assay and colorimetric method was used to determine total oxidant and antioxidant levels. Analysis of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* and red complex bacteria in subgingival plaque samples was performed by polymerase chain reaction method.

As a result of statistical analysis, clinical periodontal parameters improved in both study groups ( $p < 0,05$ ). However, the gingival index and the bleeding on probing rate decreased more in the test group at 1 and 3 months compared to the control group ( $p < 0,05$ ). In addition, the change of probing depth and clinical attachment level between 1 to 3 months was more in the test group. There was no significant difference between the groups in terms of biochemical markers ( $p > 0,05$ ). More inactivation occurred in red complex bacteria in the test group compared to the control group. It was observed that ABSP delayed the colonization of putative periodontopathogens in the periodontal pocket.

In our study, it was seen that the single-time ABSP application concurrent with CPT provided inactivation of putative periodontopathogens and reduced their recolonization and contributed to periodontal healing by providing more improvement

in clinical parameters. ABSP's can safely be used routinely in periodontal pocket decontamination if supported by studies that examine the long-term outcomes of large populations.

**Key words:** Cold plasma, periodontitis, periodontal pocket, anti-infective agents, biofilm.





## KAYNAKLAR

1. Pattison A, Pattison G. Scaling and root planing. Kaynak: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. Missouri: St louis; Saunders Elsevier; 2006:749-797'dan alınmıştır.
2. Quirynen M, Teughels W, Van Steenberghe D. Microbial shifts after subgingival debridement and formation of bacterial resistance when combined with local or systemic antimicrobials. *Oral dis* 2003;9:30-37.
3. Fridman G, Friedman G, Gutsol A, Shekhter AB, Vasilets VN, Fridman A. Applied plasma medicine. *Plasma Process Polym* 2008;5:503-533.
4. Armitage GC. Clinical evaluation of periodontal diseases. *Periodontol 2000* 1995;7:39-53.
5. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1-6.
6. Ataoglu T, Gürsel M. Periodontoloji. 3. baskı. Konya: Damla Ofset AŞ; 1999.
7. Lindhe J, Ranney R, Lamster I, et al. Consensus report: chronic periodontitis. *Ann Periodontol* 1999;4:38-38.
8. Flemmig TF. Periodontitis. *Ann Periodontol* 1999;4:32-37.
9. Socransky S, Haffajee A, Goodson J, Lindhe J. New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1984;11:21-32.
10. Carranza FA, Takei H. Bone loss and patterns of bone destruction. Kaynak: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. Missouri: St louis; Saunders Elsevier; 2006: 452-466'dan alınmıştır.
11. Novak M, Novak K. Chronic periodontitis. Kaynak: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. Missouri: St louis; Saunders Elsevier; 2006: 494-499'dan alınmıştır.
12. Berezow AB, Darveau RP. Microbial shift and periodontitis. *Periodontol 2000* 2011;55:36-47.
13. Quirynen M, Teughels W, Kinder Haake S, Newman M. Microbiology of periodontal diseases. Kaynak: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. Missouri: St louis; Saunders Elsevier; 2006: 134-169'dan alınmıştır.
14. Watnick P, Kolter R. Biofilm, city of microbes. *J Bacteriol* 2000;182:2675-2679.
15. Socransky S, Manganiello A, Propas D, Oram V, Houte Jv. Bacteriological studies of developing supragingival dental plaque. *J Periodontal Res* 1977;12:90-106.
16. Kuboniwa M, Lamont RJ. Subgingival biofilm formation. *Periodontol 2000* 2010;52:38-52.
17. Quirynen M, Vogels R, Pauwels M, et al. Initial subgingival colonization of 'pristine'pockets. *J Dent Res* 2005;84:340-344.
18. Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontol 2000* 2004;36:14-26.
19. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000* 2005;38:135-187.
20. Socransky S, Haffajee A, Cugini M, Smith C, Kent R. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998;25:134-144.

21. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000* 2002;28:12-55.
22. Rosier BT, De Jager M, Zaura E, Krom BP. Historical and contemporary hypotheses on the development of oral diseases: are we there yet? *Front Cell Infect Microbiol* 2014;4:92.
23. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat Rev Microbiol* 2012;10:717-725.
24. Socransky SS, Haffajee AD. The Bacterial Etiology of Destructive Periodontal Disease: Current Concepts\*. *J Periodontol* 1992;63:322-331.
25. Nisengard RJ, Haake SK, Newman MG, Miyasaki KT. Microbial interactions with the host in periodontal diseases. Kaynak: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. Missouri: St louis; Saunders Elsevier; 2006: 228-250'dan alınmıştır.
26. Tribble GD, Lamont RJ. Bacterial invasion of epithelial cells and spreading in periodontal tissue. *Periodontol 2000* 2010;52:68-83.
27. Haffajee A, Cugini M, Dibart S, Smith C, Kent R, Socransky S. Clinical and microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planing. *J Clin Periodontol* 1997;24:767-776.
28. Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulence factors of Porphyromonas gingivalis. *Periodontol 2000* 1999;20:168-238.
29. Olsen I, Shah HN, Gharbia SE. Taxonomy and biochemical characteristics of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis. *Periodontol 2000* 1999;20:14-52.
30. Fives-Taylor PM, Meyer DH, Mintz KP, Brissette C. Virulence factors of Actinobacillus actinomycetemcomitans. *Periodontol 2000* 1999;20:136-167.
31. Antony B, Thomas S, Chandrashekar S, Kumar MS, Kumar V. Osteomyelitis of the mandible due to Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans. *Indian J Pathol Microbiol* 2009;52:115.
32. Kaplan JB, Schreiner HC, Furgang D, Fine DH. Population structure and genetic diversity of Actinobacillus actinomycetemcomitans strains isolated from localized juvenile periodontitis patients. *J Clin Microbiol* 2002;40:1181-1187.
33. Henderson B, Ward JM, Ready D. Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans: a triple A\* periodontopathogen? *Periodontol 2000* 2010;54:78-105.
34. Celenligil H, Ebersole J. Analysis of serum antibody responses to periodontopathogens in early-onset periodontitis patients from different geographical locations. *J Clin Periodontol* 1998;25:994-1002.
35. Meyer DH, Rose JE, Lippmann JE, Fives-Taylor PM. Microtubules are associated with intracellular movement and spread of the periodontopathogen Actinobacillus actinomycetemcomitans. *Infect Immun* 1999;67:6518-6525.
36. Teughels W, Haake SK, Sliepen I, et al. Bacteria interfere with A. actinomycetemcomitans colonization. *J Dent Res* 2007;86:611-617.
37. Fives-Taylor P, Meyer D, Mintz K. Virulence Factors of the Periodontopathogen Actinobacillus actinomycetemcomitans\*. *J Periodontol* 1996;67:291-297.
38. Kelk P, Claesson R, Chen C, Sjöstedt A, Johansson A. IL-1 $\beta$  secretion induced by Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans is mainly caused by the leukotoxin. *Int J Med Microbiol* 2008;298:529-541.

39. Xynogala I, Volgina A, DiRienzo JM, Korostoff J. Evaluation of the humoral immune response to the cytolethal distending toxin of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Y4 in subjects with localized aggressive periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 2009;24:116-123.
40. Belibasakis GN, Brage M, Lagergård T, Johansson A. Cytolethal distending toxin upregulates RANKL expression in Jurkat T-cells. *Apmis* 2008;116:499-506.
41. Fernandes K, Mayer M, Ando E, Ulbrich A, Amarente-Mendes J, Russo M. Inhibition of interferon- $\gamma$ -induced nitric oxide production in endotoxin-activated macrophages by cytolethal distending toxin. *Oral Microbiol Immunol* 2008;23:360-366.
42. Haubek D, Ennibi O-K, Poulsen K, Væth M, Poulsen S, Kilian M. Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study. *The Lancet* 2008;371:237-242.
43. Christersson LA. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and localized juvenile periodontitis. Clinical, microbiologic and histologic studies. *Swed Dent J Suppl* 1992;90:1-46.
44. Faveri M, Figueiredo LC, Duarte PM, Mestnik MJ, Mayer MPA, Feres M. Microbiological profile of untreated subjects with localized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 2009;36:739-749.
45. Sanz M, Van Winkelhoff AJ, Herrera D, DelleMijn-Kippuw N, Simón R, Winkel E. Differences in the composition of the subgingival microbiota of two periodontitis populations of different geographical origin. A comparison between Spain and The Netherlands. *Eur J Oral Sci* 2000;108:383-392.
46. Malek R, Fisher J, Caleca A, et al. Inactivation of the *Porphyromonas gingivalis* fimA gene blocks periodontal damage in gnotobiotic rats. *J Bacteriol* 1994;176:1052-1059.
47. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the 'red complex', a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol 2000* 2005;38:72-122.
48. Darveau RP, Cunningham MD, Bailey T, et al. Ability of bacteria associated with chronic inflammatory disease to stimulate E-selectin expression and promote neutrophil adhesion. *Infect Immun* 1995;63:1311-1317.
49. Zhang W, Ju J, Rigney T, Tribble G. Integrin  $\alpha 5 \beta 1$ -fimbriae binding and actin rearrangement are essential for *Porphyromonas gingivalis* invasion of osteoblasts and subsequent activation of the JNK pathway. *BMC microbiol* 2013;13:1.
50. Liang S, Krauss JL, Domon H, et al. The C5a receptor impairs IL-12-dependent clearance of *Porphyromonas gingivalis* and is required for induction of periodontal bone loss. *J Immunol* 2011;186:869-877.
51. Nakayama K, Kadowaki T, Okamoto K, Yamamoto K. Construction and Characterization of Arginine-specific Cysteine Proteinase (Arg-gingipain)-deficient Mutants of *Porphyromonas gingivalis*: Evidence for significant contribution of arg-gingipain to virulence. *J Biol Chem* 1995;270:23619-23626.
52. Miyachi K, Ishihara K, Kimizuka R, Okuda K. Arg-gingipain A DNA vaccine prevents alveolar bone loss in mice. *J Dent Res* 2007;86:446-450.
53. Darveau RP, Belton CM, Reife RA, Lamont RJ. Local chemokine paralysis, a novel pathogenic mechanism for *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 1998;66:1660-1665.

54. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, et al. Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. *Cell host microbe* 2011;10:497-506.
55. Page R, Lantz M, Darveau R, et al. Immunization of *Macaca fascicularis* against experimental periodontitis using a vaccine containing cysteine proteases purified from *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol* 2007;22:162-168.
56. Socransky S, Haffajee A, Dzink J. Relationship of subgingival microbial complexes to clinical features at the sampled sites. *J Clin Periodontol* 1988;15:440-444.
57. Chaves ES, Jeffcoat MK, Ryerson CC, Snyder B. Persistent bacterial colonization of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in periodontitis and its association with alveolar bone loss after 6 months of therapy. *J Clin Periodontol* 2000;27:897-903.
58. Tanner ACR, Haffer C, Bratthall G, Visconti R, Socransky S. A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J Clin Periodontol* 1979;6:278-307.
59. Shimotahira N, Oogai Y, Kawada-Matsuo M, et al. The surface layer of *Tannerella forsythia* contributes to serum resistance and oral bacterial coaggregation. *Infect Immun* 2013;81:1198-1206.
60. Sharma A, Inagaki S, Honma K, Sfintescu C, Baker P, Evans R. *Tannerella forsythia*-induced alveolar bone loss in mice involves leucine-rich-repeat BspA protein. *J Dent Res* 2005;84:462-467.
61. Sharma A. Virulence mechanisms of *Tannerella forsythia*. *Periodontol 2000* 2010;54:106-116.
62. Takemoto T, Kurihara H, Dahlen G. Characterization of *Bacteroides forsythus* isolates. *J Clin Microbiol* 1997;35:1378-1381.
63. Zijngje V, van Leeuwen MBM, Degener JE, et al. Oral biofilm architecture on natural teeth. *PloS one* 2010;5:e9321.
64. Tanner AC, Izard J. *Tannerella forsythia*, a periodontal pathogen entering the genomic era. *Periodontol 2000* 2006;42:88-113.
65. Haffajee A, Cugini M, Tanner A, et al. Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *J Clin Periodontol* 1998;25:346-353.
66. Van Winkelhoff A, Loos B, Van Der Reijden W, Van Der Velden U. *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. *J Clin Periodontol* 2002;29:1023-1028.
67. Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000;27:648-657.
68. Klein MI, Gonçalves RB. Detection of *Tannerella forsythensis* (*Bacteroides forsythus*) and *Porphyromonas gingivalis* by polymerase chain reaction in subjects with different periodontal status. *J Periodontol* 2003;74:798-802.
69. Fenno JC, McBride BC. Virulence factors of oral treponemes. *Anaerobe* 1998;4:1-17.
70. Dashper S, Seers C, Tan K, Reynolds E. Virulence factors of the oral spirochete *Treponema denticola*. *J Dent Res* 2011;90:691-703.
71. Chi B, Qi M, Kuramitsu HK. Role of dentilisin in *Treponema denticola* epithelial cell layer penetration. *Res Microbiol* 2003;154:637-643.

72. Kesavalu L, Walker S, Holt S, Crawley R, Ebersole J. Virulence characteristics of oral treponemes in a murine model. *Infect Immun* 1997;65:5096-5102.
73. Kesavalu L, Holt S, Ebersole J. Virulence of a polymicrobial complex, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis*, in a murine model. *Oral Microbiol Immunol* 1998;13:373-377.
74. Kesavalu L, Sathishkumar S, Bakthavatchalu V, et al. Rat model of polymicrobial infection, immunity, and alveolar bone resorption in periodontal disease. *Infect Immun* 2007;75:1704-1712.
75. Byrne S, Dashper S, Darby I, Adams G, Hoffmann B, Reynolds E. Progression of chronic periodontitis can be predicted by the levels of *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* in subgingival plaque. *Oral Microbiol Immunol* 2009;24:469-477.
76. Bamford CV, Fenno JC, Jenkinson HF, Dymock D. The chymotrypsin-like protease complex of *Treponema denticola* ATCC 35405 mediates fibrinogen adherence and degradation. *Infect Immun* 2007;75:4364-4372.
77. Sela MN. Role of *Treponema denticola* in periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 2001;12:399-413.
78. Bolstad A, Jensen H, Bakken V. Taxonomy, biology, and periodontal aspects of *Fusobacterium nucleatum*. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:55-71.
79. Signat B, Roques C, Poulet P, Duffaut D. Role of *Fusobacterium nucleatum* in periodontal health and disease. *Curr Issues Mol Biol* 2011;13:25-36.
80. Kinder SA, Holt SC. Localization of the *Fusobacterium nucleatum* T18 adhesin activity mediating coaggregation with *Porphyromonas gingivalis* T22. *J Bacteriol* 1993;175:840-850.
81. Papapanou P, Sellen A, Wennström J, Dahlen G. An analysis of the subgingival microflora in randomly selected subjects. *Oral Microbiol Immunol* 1993;8:24-29.
82. Casas A, Herrera D, Martín-Carnes J, González I, O'Connor A, Sanz M. Influence of sampling strategy on microbiologic results before and after periodontal treatment. *J Periodontol* 2007;78:1103-1112.
83. Boutaga K, Savelkoul PH, Winkel EG, van Winkelhoff AJ. Comparison of subgingival bacterial sampling with oral lavage for detection and quantification of periodontal pathogens by real-time polymerase chain reaction. *J Periodontol* 2007;78:79-86.
84. Sanz M, Newman M, Quirynen M. Advanced diagnostic techniques. Kaynak: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. Missouri: St louis; Saunders Elsevier; 2006:594-601'den alınmıştır.
85. Maeda H, Fujimoto C, Haruki Y, et al. Quantitative real-time PCR using TaqMan and SYBR Green for *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, tetQ gene and total bacteria. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003;39:81-86.
86. Reverse-Transcription T. REVIEW. *J Biomol Tech* 2004;15:155-166.
87. Papapanou PN. Population studies of microbial ecology in periodontal health and disease. *Ann Periodontol* 2002;7:54-61.
88. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000* 1997;14:112-143.

89. Kirkwood K, Nisengard R, Haake S, Miyasaki K. Immunity and inflammation: basic concepts. Kaynak: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. Missouri: St louis; Saunders Elsevier; 2006:209-227'den alınmıştır..
90. Van Dyke TE, Kornman KS. Inflammation and factors that may regulate inflammatory response. *J Periodontol* 2008;79:1503-1507.
91. Fiorellini JP, Kim DM, Stathopoulou PG. Gingival inflammation. Kaynak: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 12th ed. Missouri: St louis; Saunders Elsevier; 2014:219-223'den alınmıştır.
92. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000* 2014;64:57-80.
93. Hanada T, Yoshimura A. Regulation of cytokine signaling and inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002;13:413-421.
94. Grover HS, Saini R, Bhardwaj P, Bhardwaj A. Cytokines and Other Inflammatory Mediators in Periodontal Health and Disease. *Indian J Oral Health Res* 2016;2:12.
95. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998;9:248-266.
96. Sims JE, Smith DE. The IL-1 family: regulators of immunity. *Nat Rev Immunol* 2010;10:89-102.
97. Dinarello C. The IL-1 family and inflammatory diseases. *Clin Exp Rheumatol* 2002;20:S1-S13.
98. Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity* 2013;39:1003-1018.
99. Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol* 2008;79:1585-1591.
100. Liu YCG, Lerner UH, Teng YTA. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000* 2010;52:163-206.
101. Schwartz Z, Goultschin J, Dean DD, Boyan BD. Mechanisms of alveolar bone destruction in periodontitis. *Periodontol 2000* 1997;14:158-172.
102. Kim JH, Jin HM, Kim K, et al. The mechanism of osteoclast differentiation induced by IL-1. *J Immunol* 2009;183:1862-1870.
103. Koide M, Suda S, Saitoh S, et al. In vivo administration of IL-1 $\beta$  accelerates silk ligature-induced alveolar bone resorption in rats. *J Oral Pathol Med* 1995;24:420-434.
104. Heasman P, Collins J, Offenbacher S. Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 $\beta$ , leukotriene B4, prostaglandin E2, thromboxane B2 and tumour necrosis factor  $\alpha$  in experimental gingivitis in humans. *J Periodontal Res* 1993;28:241-247.
105. Tsai C-C, Ho Y-P, Chen C-C. Levels of Interleukin-1 $\beta$  and Interleukin-8 in Gingival Crevicular Fluids in Adult Periodontitis\*. *J Periodontol* 1995;66:852-859.
106. Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. Levels of interleukin-1 $\beta$ , -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *Periodontol 2000*;71:1535-1545.

107. Zhong Y, Slade G, Beck J, Offenbacher S. Gingival crevicular fluid interleukin-1 $\beta$ , prostaglandin E2 and periodontal status in a community population. *J Clin Periodontol* 2007;34:285-293.
108. Ishihara Y, Nishihara T, Kuroyanagi T, et al. Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. *J Periodontol Res* 1997;32:524-529.
109. Engebretson SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB. GCF IL-1 $\beta$  profiles in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2002;29:48-53.
110. Faizuddin M, Bharathi S, Rohini N. Estimation of interleukin-1 $\beta$  levels in the gingival crevicular fluid in health and in inflammatory periodontal disease. *J Periodontol Res* 2003;38:111-114.
111. Tobón-Aroyave S, Jaramillo-González P, Isaza-Guzmán D. Correlation between salivary IL-1 $\beta$  levels and periodontal clinical status. *Arch Oral Biol* 2008;53:346-352.
112. Miller CS, King CP, Langub MC, Kryscio RJ, Thomas MV. Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study. *J Am Dent Assoc* 2006;137:322-329.
113. Kaushik R, Yeltiwar RK, Pushpanshu K. Salivary interleukin-1 $\beta$  levels in patients with chronic periodontitis before and after periodontal phase I therapy and healthy controls: a case-control study. *J Periodontol* 2011;82:1353-1359.
114. Kinney J, Morelli T, Braun T, et al. Saliva/pathogen biomarker signatures and periodontal disease progression. *J Dent Res* 2011;90:752-758.
115. Sexton WM, Lin Y, Kryscio RJ, Dawson DR, Ebersole JL, Miller CS. Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. *J Clin Periodontol* 2011;38:434-441.
116. Bartold PM, Narayanan AS. Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontol 2000* 2006;40:29-49.
117. Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Amanuma R, Yamazaki K. Balance of inflammatory response in stable gingivitis and progressive periodontitis lesions. *Clin Exp Immunol* 2006;144:35-40.
118. Dutzan N, Gamonal J, Silva A, Sanz M, Vernal R. Over-expression of forkhead box P3 and its association with receptor activator of nuclear factor- $\kappa$  B ligand, interleukin (IL)-17, IL-10 and transforming growth factor- $\beta$  during the progression of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2009;36:396-403.
119. Cetinkaya B, Guzeldemir E, Ogus E, Bulut S. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2013;84:84-93.
120. Zhang Q, Chen B, Zhu D, Yan F. Biomarker levels in gingival crevicular fluid of subjects with different periodontal conditions: A cross-sectional study. *Arch Oral Biol* 2016;72:92-98.
121. Bozkurt FY, Ay ZY, Berker E, Tepe E, Akkuş S. Anti-inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid in patients with periodontitis and rheumatoid arthritis: a preliminary report. *Cytokine* 2006;35:180-185.
122. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature* 2008;453:314-321.
123. Smith PC, Martínez C, Cáceres M, Martínez J. Research on growth factors in periodontology. *Periodontol 2000* 2015;67:234-250.

124. HAeKKINEN L, UITTO VJ, Larjava H. Cell biology of gingival wound healing. *Periodontol 2000* 2000;24:127-152.
125. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995;146:1029.
126. Booth V, Young S, Cruchley A, Taichman N, Paleolog E. Vascular endothelial growth factor in human periodontal disease. *J Periodontol Res* 1998;33:491-499.
127. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997;18:4-25.
128. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* 1995;1:27-30.
129. Cetinkaya BO, Acikgoz G, Ayas B, Aliyev E, Sakallioğlu EE. Increased expression of vascular endothelial growth factor in cyclosporin A-induced gingival overgrowth in rats. *J Periodontol* 2006;77:54-60.
130. Taichman NS, Cruchley AT, Fletcher LM, et al. Vascular endothelial growth factor in normal human salivary glands and saliva: a possible role in the maintenance of mucosal homeostasis. *Lab Invest* 1998;78:869-875.
131. Johnson R, Serio F, Dai X. Vascular endothelial growth factors and progression of periodontal diseases. *J Periodontol* 1999;70:848-852.
132. Keles GC, Cetinkaya BO, Eroglu C, Simsek SB, Kahraman H. Vascular endothelial growth factor expression levels of gingiva in gingivitis and periodontitis patients with/without diabetes mellitus. *J Inflamm Res* 2010;59:543-549.
133. Artese L, Piattelli A, de Gouveia Cardoso LA, et al. Immunoexpression of angiogenesis, nitric oxide synthase, and proliferation markers in gingival samples of patients with aggressive and chronic periodontitis. *J Periodontol* 2010;81:718-726.
134. Sorsa T, Gursoy UK, Nwhator S, et al. Analysis of matrix metalloproteinases, especially MMP-8, in gingival crevicular fluid, mouthrinse and saliva for monitoring periodontal diseases. *Periodontol 2000* 2016;70:142-163.
135. Sorsa T, Tjäderhane L, Kontinen YT, et al. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med* 2006;38:306-321.
136. Kiili M, Cox S, Chen H, et al. Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *J Clin Periodontol* 2002;29:224-232.
137. Atilla G, Sorsa T, Rönkä H, Emingil G. Matrix metalloproteinases (MMP-8 and-9) and neutrophil elastase in gingival crevicular fluid of cyclosporin-treated patients. *J Periodontol* 2001;72:354-360.
138. Chen H, Cox S, Eley B, Mäntylä P, Rönkä H, Sorsa T. Matrix metalloproteinase-8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2000;27:366-369.
139. Buduneli N, Vardar S, Atilla G, Sorsa T, Luoto H, Baylas H. Gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels following adjunctive use of meloxicam and initial phase of periodontal therapy. *J Periodontol* 2002;73:103-109.
140. Marcaccini AM, Meschiari CA, Zuardi LR, et al. Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 2010;37:180-190.



141. Mäntylä P, Stenman M, Kinane DF, et al. Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodontol* 2003;38:436-439.
142. Kinney JS, Morelli T, Oh M, et al. Crevicular fluid biomarkers and periodontal disease progression. *J Clin Periodontol* 2014;41:113-120.
143. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol 2000* 2003;31:32-42.
144. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontol 2000* 2003;31:43-54.
145. Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol 2000* 2016;70:53-64.
146. Guentsch A, Kramesberger M, Sroka A, Pfister W, Potempa J, Eick S. Comparison of gingival crevicular fluid sampling methods in patients with severe chronic periodontitis. *J Periodontol* 2011;82:1051-1060.
147. Bulkacz J, Carranza F. Defense mechanisms of the gingiva. Kaynak: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. Missouri: St louis; Saunders Elsevier; 2006:344-354'den alınmıştır.
148. Kilinc K, Kilinc A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Medical Journal* 2002;33:110-118.
149. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000* 2007;43:160-232.
150. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları; 1995.
151. Tamaki N, Tomofuji T, Ekuni D, Yamanaka R, Yamamoto T, Morita M. Short-term effects of non-surgical periodontal treatment on plasma level of reactive oxygen metabolites in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2009;80:901-906.
152. Jensen SJK. Oxidative stress and free radicals. *J Mol Struct: Theochem* 2003;666:387-392.
153. Dahiya P, Kamal R, Gupta R, Bhardwaj R, Chaudhary K, Kaur S. Reactive oxygen species in periodontitis. *J Indian Soc Periodontol* 2013;17:411.
154. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005;38:1103-1111.
155. Traverse JH, Nesselov YE, Crampton M, Lindstrom P, Thomas DD, Bache RJ. Measurement of myocardial free radical production during exercise using EPR spectroscopy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;290:H2453-H2458.
156. Asad SF, Singh S, Ahmad A, Khan NU, Hadi S. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure–activity study. *Chem Biol Interact* 2001;137:59-74.
157. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:44-84.
158. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arc Biochem Biophys* 1990;280:1-8.
159. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med* 2000;29:1106-1114.
160. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004;37:112-119.

161. Greenstein G. Periodontal Response to Mechanical Non-Surgical Therapy: A Review\*. *J Periodontol* 1992;63:118-130.
162. Perry D, Schmid M, Takei H, et al. Phase I periodontal therapy. Kaynak: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. Missouri: St louis; Saunders Elsevier; 2006:722-727'dan alınmıştır.
163. Carranza FA, Takei HH. The treatment plan. Kaynak: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. Missouri: St louis; Saunders Elsevier; 2006:626-629'dan alınmıştır.
164. Badersten A, Nilvéus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1981;8:57-72.
165. Umeda M, Takeuchi Y, Noguchi K, Huang Y, Koshy G, Ishikawa I. Effects of nonsurgical periodontal therapy on the microbiota. *Periodontol 2000* 2004;36:98-120.
166. Tezal M, Scannapieco FA, Wactawski-Wende J, Grossi SG, Genco RJ. Supragingival plaque may modify the effects of subgingival bacteria on attachment loss. *J Periodontol* 2006;77:808-813.
167. Wennström JL, Tomasi C, Bertelle A, Dellasega E. Full-mouth ultrasonic debridement versus quadrant scaling and root planing as an initial approach in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005;32:851-859.
168. Pawlowski AP, Chen A, Hacker BM, Mancl LA, Page RC, Roberts FA. Clinical effects of scaling and root planing on untreated teeth. *J Clin Periodontol* 2005;32:21-28.
169. Echeverria JJ, Caffesse RG. Effects of gingival curettage when performed 1 month after root instrumentation. *J Clin Periodontol* 1983;10:277-286.
170. Daly C, Kieser J, Corbet E, Seymour G. Cementum involved in periodontal disease: a review of its features and clinical management. *J Dent* 1979;7:185-193.
171. Cheetham W, Wilson M, Kieser J. Root surface debridement—an in vitro assessment. *J Clin Periodontol* 1988;15:288-292.
172. Hughes F, Smales F. Immunohistochemical investigation of the presence and distribution of cementum-associated lipopolysaccharides in periodontal disease. *J Periodontal Res* 1986;21:660-667.
173. Moore J, Wilson M, Kieser J. The distribution of bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) in relation to periodontally involved root surfaces. *J Clin Periodontol* 1986;13:748-751.
174. Mombelli A, Nyman S, Brägger U, Wennström J, Lang NP. Clinical and microbiological changes associated with an altered subgingival environment induced by periodontal pocket reduction. *J Clin Periodontol* 1995;22:780-787.
175. Jepsen S, Deschner J, Braun A, Schwarz F, Eberhard J. Calculus removal and the prevention of its formation. *Periodontol 2000* 2011;55:167-188.
176. Lindhe J, Socransky S, Nyman S, Haffajee A, Westfelt E. "Critical probing depths" in periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1982;9:323-336.
177. Quirynen M, Bollen C, Vandekerckhove B, Dekeyser C, Papaioannou W, Eyssen H. Full-vs. partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. *J Dent Res* 1995;74:1459-1467.
178. Quirynen M, Mongardini C, Soete M, et al. The rôle of chlorhexidine in the one-stage full-mouth disinfection treatment of patients with advanced adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000;27:578-589.

179. Eberhard J, Jervøe-Storm PM, Needleman I, Worthington H, Jepsen S. Full-mouth treatment concepts for chronic periodontitis: a systematic review. *J Clin Periodontol* 2008;35:591-604.
180. Lang NP, Tan WC, Krähenmann MA, Zwahlen M. A systematic review of the effects of full-mouth debridement with and without antiseptics in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2008;35:8-21.
181. Badersten A, Nilveus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy III. Single versus repeated instrumentation. *J Clin Periodontol* 1984;11:114-124.
182. Badersten A, Nilvéus R, Egelberg J. Effect of non-surgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1985;12:351-359.
183. Sherman P, Hutchens Jr L, Jewson L, Moriarty J, Greco G, McFall Jr W. The effectiveness of subgingival scaling and root planing I. Clinical detection of residual calculus. *J Periodontol* 1990;61:3-8.
184. Lindhe J, Westfelt E, Nyman S, Socransky S, Haffajee A. Long-term effect of surgical/non-surgical treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1984;11:448-458.
185. Delatola C, Adonogianaki E, Ioannidou E. Non-surgical and supportive periodontal therapy: predictors of compliance. *J Clin Periodontol* 2014;41:791-796.
186. Ciancio SG, Mariotti A. Anti-infective Therapy. Kaynak: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 12th ed. Missouri: St louis; Saunders Elsevier; 2014:515-524'den alınmıştır.
187. Tomasi C, Wennström JL. Full-mouth treatment vs. the conventional staged approach for periodontal infection control. *Periodontol 2000* 2009;51:45-62.
188. Slots J. Selection of antimicrobial agents in periodontal therapy. *J Periodontal Res* 2002;37:389-398.
189. Slots J, Rams TE. New views on periodontal microbiota in special patient categories. *J Clin Periodontol* 1991;18:411-420.
190. Slots J, Jorgensen MG. Effective, safe, practical and affordable periodontal antimicrobial therapy: where are we going, and are we there yet? *Periodontol 2000* 2002;28:298-312.
191. Heitz-Mayfield LJ, Lang NP. Surgical and nonsurgical periodontal therapy. Learned and unlearned concepts. *Periodontol 2000* 2013;62:218-231.
192. Pavčić M, Van Winkelhoff A, De Graaff J. In vitro susceptibilities of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to a number of antimicrobial combinations. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:2634-2638.
193. Himanshu B, Shyam M, Yatin M. Drug-drug interactions in medical ICU. *Indian J Pharm Pharmacol* 2015;2:62-69.
194. Slots J. Systemic antibiotics in periodontics. *J Periodontol* 2004;75:1553-1565.
195. Mombelli A, Herrera D. Antibiotics in periodontal therapy. Kaynak: Lindhe J, Lang NP. Clinical periodontology and implant dentistry: 6th ed. Blackwell Munksgaard:Copenhagen; 2015:870-884'den alınmıştır.
196. Xu Y, Höfling K, Fimmers R, Frentzen M, Jervøe-Storm P. Clinical and microbiological effects of topical subgingival application of hyaluronic acid gel adjunctive to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol* 2004;75:1114-1118.

197. Mizrak T, Güncü GN, Caglayan F, Balci TA, Aktar GS, Ipek F. Effect of a controlled-release chlorhexidine chip on clinical and microbiological parameters and prostaglandin E2 levels in gingival crevicular fluid. *J Periodontol* 2006;77:437-443.
198. Walter C, Weiger R. Antibiotics as the only therapy of untreated chronic periodontitis: a critical commentary. *J Clin Periodontol* 2006;33:938-939.
199. Hanes PJ, Purvis JP. Local anti-infective therapy: pharmacological agents. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:79-98.
200. Bonito AJ, Lux L, Lohr KN. Impact of local adjuncts to scaling and root planing in periodontal disease therapy: a systematic review. *J Periodontol* 2005;76:1227-1236.
201. Goodson J, Offenbacher S, Farr D, Hogan P. Periodontal Disease Treatment by Local Drug Delivery\*. *J Periodontol* 1985;56:265-272.
202. Jahn C. Supragingival and subgingival irrigation. Kaynak: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. Missouri: St louis; Saunders Elsevier; 2006:836-844'den alınmıştır.
203. Türkoğlu O, Becerik S, Emingil G, Kütükçüler N, Baylas H, Atilla G. The effect of adjunctive chlorhexidine mouthrinse on clinical parameters and gingival crevicular fluid cytokine levels in untreated plaque-associated gingivitis. *J Inflamm Res* 2009;58:277-283.
204. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999;6:437-439.
205. MacAlpine R, Magnusson I, Kiger R, Crigger M, Garrett S, Egelberg J. Antimicrobial irrigation of deep pockets to supplement oral hygiene instruction and root debridement. *J Clin Periodontol* 1985;12:568-577.
206. Keijser JA, Verkade H, Timmerman MF, Van der Weijden FA. Comparison of 2 commercially available chlorhexidine mouthrinses. *J Periodontol* 2003;74:214-218.
207. Oosterwaal P, Mikx F, Hof M, Renggli H. Short-term bactericidal activity of chlorhexidine gel, stannous fluoride gel and amine fluoride gel tested in periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 1991;18:97-100.
208. Oosterwaal P, Mikx F, Hof M, Renggli H. Comparison of the antimicrobial effect of the application of chlorhexidine gel, amine fluoride gel and stannous fluoride gel in debrided periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 1991;18:245-251.
209. Cosyn J, Sabzevar MM. Subgingival chlorhexidine varnish administration as an adjunct to same-day full-mouth root planing. II. Microbiological observations. *J Periodontol* 2007;78:438-445.
210. Jeffcoat MK, Bray KS, Ciancio SG, et al. Adjunctive use of a subgingival controlled-release chlorhexidine chip reduces probing depth and improves attachment level compared with scaling and root planing alone. *J Periodontol* 1998;69:989-997.
211. Rodrigues IFG, Machion L, Casati MZ, et al. Clinical evaluation of the use of locally delivered chlorhexidine in periodontal maintenance therapy. *J Periodontol* 2007;78:624-628.
212. Cosyn J, Wyn I. A systematic review on the effects of the chlorhexidine chip when used as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol* 2006;77:257-264.
213. Carvalho J, Novak MJ, Mota LF. Evaluation of the effect of subgingival placement of chlorhexidine chips as an adjunct to scaling and root planing. *J Periodontol* 2007;78:997-1001.

214. Aoki A, Sasaki KM, Watanabe H, Ishikawa I. Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol 2000* 2004;36:59-97.
215. Ishikawa I, Baehni P. Nonsurgical periodontal therapy—where do we stand now? *Periodontol 2000* 2004;36:9-13.
216. Qadri T, Miranda L, Tuner J, Gustafsson A. The short-term effects of low-level lasers as adjunct therapy in the treatment of periodontal inflammation. *J Clin Periodontol* 2005;32:714-719.
217. Crespi R, Cappare P, Toscanelli I, Gherlone E, Romanos GE. Effects of Er: YAG laser compared to ultrasonic scaler in periodontal treatment: a 2-year follow-up split-mouth clinical study. *J Periodontol* 2007;78:1195-1200.
218. Saglam M, Kantarci A, Dundar N, Hakki SS. Clinical and biochemical effects of diode laser as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis: a randomized, controlled clinical trial. *Lasers Med Sci* 2014;29:37-46.
219. Schwarz F, Aoki A, Becker J, Sculean A. Laser application in non-surgical periodontal therapy: a systematic review. *J Clin Periodontol* 2008;35:29-44.
220. Sgolastra F, Petrucci A, Gatto R, Monaco A. Efficacy of Er: YAG laser in the treatment of chronic periodontitis: systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci* 2012;27:661-673.
221. Ishikawa I, Aoki A, Takasaki AA, Mizutani K, Sasaki KM, Izumi Y. Application of lasers in periodontics: true innovation or myth? *Periodontol 2000* 2009;50:90-126.
222. Ishikawa I, Aoki A, Takasaki AA. Potential applications of Erbium: YAG laser in periodontics. *J Periodontal Res* 2004;39:275-285.
223. Braun A, Dehn C, Krause F, Jepsen S. Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 2008;35:877-884.
224. Carvalho VF, Andrade PV, Rodrigues MF, et al. Antimicrobial photodynamic effect to treat residual pockets in periodontal patients: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2015;42:440-447.
225. Sgolastra F, Petrucci A, Gatto R, Marzo G, Monaco A. Photodynamic therapy in the treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci* 2013;28:669-682.
226. Meisel P, Kocher T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. *J Photochem Photobiol B* 2005;79:159-170.
227. Azarpazhooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *J Dent* 2008;36:104-116.
228. Kshitish D, Laxman VK. The use of ozonated water and 0.2% chlorhexidine in the treatment of periodontitis patients: A clinical and microbiologic study. *Indian J Dent Res* 2010;21:341.
229. Saini R. Ozone therapy in dentistry: A strategic review. *J Nat Sci Biol Med* 2011;2:151.
230. Ramzy MI, Gomaa HE, Mostafaa MI, Zaki BM. Management of aggressive periodontitis using ozonized water. *Egypt Med JNR C* 2005;6:229-245.
231. Skurska A, Pietruska M, Paniczko-Drężek A, et al. Evaluation of the influence of ozonotherapy on the clinical parameters and MMP levels in patients with chronic and aggressive periodontitis. *Adv Med Sci* 2010;55:297-307.
232. Eick S, Tigan M, Sculean A. Effect of ozone on periodontopathogenic species—an in vitro study. *Clin Oral Investig* 2012;16:537-544.

233. Fridman A. Plasma chemistry. Cambridge university press; 2012.
234. Morent R, De Geyter N, Desmet T, Dubruel P, Leys C. Plasma surface modification of biodegradable polymers: a review. *Plasma Process Polym* 2011;8:171-190.
235. Aydin S, Onbaşıli D. Biyopolimerler ve Kullanım Alanları. Pharmacy. (pH thesis). Erciyes University, Faculty of Pharmacy. May 2011.
236. Yildirim ED, Besunder R, Pappas D, Allen F, Güçeri S, Sun W. Accelerated differentiation of osteoblast cells on polycaprolactone scaffolds driven by a combined effect of protein coating and plasma modification. *Biofabrication* 2010;2:014109.
237. Yildirim ED, Ayan H, Vasilets VN, Fridman A, Güçeri S, Sun W. Effect of dielectric barrier discharge plasma on the attachment and proliferation of osteoblasts cultured over poly ( $\epsilon$ -caprolactone) scaffolds. *Plasma Process Polym* 2008;5:58-66.
238. Duske K, Koban I, Kindel E, et al. Atmospheric plasma enhances wettability and cell spreading on dental implant metals. *J Clin Periodontol* 2012;39:400-407.
239. Giro G, Tovar N, Witek L, et al. Osseointegration assessment of chairside argon-based nonthermal plasma-treated Ca-P coated dental implants. *J Biomed Mater Res A* 2013;101:98-103.
240. Yoshinari M, Matsuzaka K, Inoue T. Surface modification by cold-plasma technique for dental implants—Bio-functionalization with binding pharmaceuticals. *Jpn Dent Sci Rev* 2011;47:89-101.
241. Monetta T, Scala A, Malmo C, Bellucci F. Antibacterial Activity of Cold Plasma– Treated Titanium Alloy. *Plasma Med* 2011;1.
242. Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater* 2007;23:844-854.
243. Han GJ, Kim JH, Chung SN, et al. Effects of non-thermal atmospheric pressure pulsed plasma on the adhesion and durability of resin composite to dentin. *Eur J Oral Sci* 2014;122:417-423.
244. Ritts AC, Li H, Yu Q, et al. Dentin surface treatment using a non-thermal argon plasma brush for interfacial bonding improvement in composite restoration. *Eur J Oral Sci* 2010;118:510-516.
245. Dong X, Ritts AC, Staller C, Yu Q, Chen M, Wang Y. Evaluation of plasma treatment effects on improving adhesive–dentin bonding by using the same tooth controls and varying cross-sectional surface areas. *Eur J Oral Sci* 2013;121:355-362.
246. Guo J, Huang K, Wang J. Bactericidal effect of various non-thermal plasma agents and the influence of experimental conditions in microbial inactivation: A review. *Food Control* 2015;50:482-490.
247. Rupf S, Lehmann A, Hannig M, et al. Killing of adherent oral microbes by a non-thermal atmospheric plasma jet. *J Med Microbiol* 2010;59:206-212.
248. Ermolaeva SA, Varfolomeev AF, Chernukha MY, et al. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds. *J Med Microbiol* 2011;60:75-83.
249. Maisch T, Shimizu T, Li Y-F, et al. Decolonisation of MRSA, S. aureus and E. coli by cold-atmospheric plasma using a porcine skin model in vitro. *PloS one* 2012;7:e34610.
250. Xiong Z, Du T, Lu X, Cao Y, Pan Y. How deep can plasma penetrate into a biofilm? *Appl Phys Lett* 2011;98:221503.

251. Koban I, Matthes R, Hübner N-O, et al. Treatment of *Candida albicans* biofilms with low-temperature plasma induced by dielectric barrier discharge and atmospheric pressure plasma jet. *New J Phys* 2010;12:073039.
252. Yang B, Chen J, Yu Q, et al. Oral bacterial deactivation using a low-temperature atmospheric argon plasma brush. *J Dent* 2011;39:48-56.
253. Habib M, Hottel TL, Hong L. Antimicrobial effects of non-thermal atmospheric plasma as a novel root canal disinfectant. *Clin Plasma Med* 2014;2:17-21.
254. Üreyen Kaya B, Kececi A, Gültaş H, et al. Efficacy of endodontic applications of ozone and low-temperature atmospheric pressure plasma on root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Lett Appl Microbiol* 2014;58:8-15.
255. Kovalova Z, Zahoran M, Zahoranová A, Machala Z. Streptococci biofilm decontamination on teeth by low-temperature air plasma of dc corona discharges. *J Phys D Appl Phys* 2014;47:224014.
256. Koban I, Jablonowski L, Kramer A, Weltmann K-D, Kocher T. Medical plasma in dentistry: A future therapy for peri-implantitis. In: *Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security*: Springer, 2012:191-200.
257. Rupf S, Idlibi AN, Al Marrawi F, et al. Removing biofilms from microstructured titanium ex vivo: a novel approach using atmospheric plasma technology. *PloS one* 2011;6:e25893.
258. Isbary G, Morfill G, Schmidt H, et al. A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients. *Br J Dermatol* 2010;163:78-82.
259. Fetykov A, Avdeeva E, Fulton J, Ferrel J, Gotsev V, Galov A. The effectiveness of cold plasma treatment of diabetic feet syndrome, complicated by purulonecrotic process. In: Second International Conference on Plasma San Antonio, Texas, USA, 2009.
260. Daeschlein G, Scholz S, Arnold A, et al. In vitro susceptibility of important skin and wound pathogens against low temperature atmospheric pressure plasma jet (APPJ) and dielectric barrier discharge plasma (DBD). *Plasma Process Polym* 2012;9:380-389.
261. Heinlin J, Morfill G, Landthaler M, et al. Plasma medicine: possible applications in dermatology. *JDDG: J Dtsch Dermatol Ges* 2010;8:968-976.
262. Guo S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res* 2010;89:219-229.
263. Edwards R, Harding KG. Bacteria and wound healing. *Curr Opin Infect Dis* 2004;17:91-96.
264. Metcalfe AD, Ferguson MW. Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration. *J R Soc Interface* 2007;4:413-437.
265. Dobrynin D, Wu A, Kalghatgi S, et al. Live pig skin tissue and wound toxicity of cold plasma treatment. *Plasma Med* 2011;1.
266. Heinlin J, Zimmermann JL, Zeman F, et al. Randomized placebo-controlled human pilot study of cold atmospheric argon plasma on skin graft donor sites. *Wound Repair Regen* 2013;21:800-807.
267. Bender CP, Hübner N-O, Weltmann K-D, Scharf C, Kramer A. Tissue tolerable plasma and polihexanide: are synergistic effects possible to promote healing

of chronic wounds? In vivo and in vitro results. In: Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security: Springer, 2012:321-334.

268. Shekhter AB, Serezhenkov VA, Rudenko TG, Pekshev AV, Vanin AF. Beneficial effect of gaseous nitric oxide on the healing of skin wounds. *Nitric oxide* 2005;12:210-219.

269. Tiede R, Hirschberg J, Viöl W, Emmert S. A  $\mu$ s-Pulsed Dielectric Barrier Discharge Source: Physical Characterization and Biological Effects on Human Skin Fibroblasts. *Plasma Process Polym* 2016.

270. Nakajima Y, Mukai K, Rahayu HSE, et al. Cold plasma on full-thickness cutaneous wound accelerates healing through promoting inflammation, re-epithelialization and wound contraction. *Clin Plasma Med* 2014;2:28-35.

271. Silness J, Løe H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964;22:121-135.

272. Løe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963;21:533-551.

273. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975;25:229-235.

274. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *Methods* 2001;25:402-408.

275. Cobb CM. Non-surgical pocket therapy: mechanical. *Ann Periodontol* 1996;1:443-490.

276. Heitz-Mayfield L, Trombelli L, Heitz F, Needleman I, Moles D. A systematic review of the effect of surgical debridement vs. non-surgical debridement for the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002;29:92-102.

277. Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC. Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:115-181.

278. Herrera D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Roldán S. A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2002;29:136-159.

279. Guentsch A, Jentsch H, Pfister W, Hoffmann T, Eick S. Moxifloxacin as an adjunctive antibiotic in the treatment of severe chronic periodontitis. *J Periodontol* 2008;79:1894-1903.

280. Pavia M, Nobile CG, Angelillo IF. Meta-analysis of local tetracycline in treating chronic periodontitis. *J Periodontol* 2003;74:916-932.

281. Radvar M, Pourtaghi N, Kinane D. Comparison of 3 periodontal local antibiotic therapies in persistent periodontal pockets. *J Periodontol* 1996;67:860-865.

282. Dukić W, Bago I, Aurer A, Roguljić M. Clinical effectiveness of diode laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized clinical study. *J Periodontol* 2013;84:1111-1117.

283. Isbary G, Morfill G, Zimmermann J, Shimizu T, Stolz W. Cold atmospheric plasma: a successful treatment of lesions in Hailey-Hailey disease. *Arch Dermatol* 2011;147:388-390.

284. Brehmer F, Haenssle H, Daeschlein G, et al. Alleviation of chronic venous leg ulcers with a hand-held dielectric barrier discharge plasma generator (PlasmaDerm® VU-2010): results of a monocentric, two-armed, open, prospective, randomized and controlled trial (NCT01415622). *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015;29:148-155.



285. Daeschlein G, Scholz S, Ahmed R, et al. Skin decontamination by low-temperature atmospheric pressure plasma jet and dielectric barrier discharge plasma. *J Hosp Infect* 2012;81:177-183.
286. Lademann O, Richter H, Patzelt A, et al. Application of a plasma-jet for skin antiseptics: analysis of the thermal action of the plasma by laser scanning microscopy. *Laser Phys Lett* 2010;7:458-462.
287. Tipa RS, Kroesen GM. Plasma-stimulated wound healing. *IEEE Trans Plasma Sci* 2011;39:2978-2979.
288. Kalghatgi S, Azizkhan-Clifford J. DNA damage in mammalian cells by atmospheric pressure microsecond-pulsed dielectric barrier discharge plasma is not mediated via lipid peroxidation. *Plasma Med* 2011;1.
289. Fluhr JW, Sassning S, Lademann O, et al. In vivo skin treatment with tissue-tolerable plasma influences skin physiology and antioxidant profile in human stratum corneum. *Exp Dermatol* 2012;21:130-134.
290. Nastuta AV, Topala I, Grigoras C, Pohoata V, Popa G. Stimulation of wound healing by helium atmospheric pressure plasma treatment. *J Phys D Appl Phys* 2011;44:105204.
291. Yu Y, Tan M, Chen H, et al. Non-thermal plasma suppresses bacterial colonization on skin wound and promotes wound healing in mice. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2011;31:390-394.
292. García-Alcantara E, López-Callejas R, Morales-Ramírez PR, et al. Accelerated mice skin acute wound healing in vivo by combined treatment of argon and helium plasma needle. *Arch Med Res* 2013;44:169-177.
293. Metelmann H-R, Vu TT, Do HT, et al. Scar formation of laser skin lesions after cold atmospheric pressure plasma (CAP) treatment: A clinical long term observation. *Clin Plasma Med* 2013;1:30-35.
294. Haertel B, von Woedtke T, Weltmann K-D, Lindequist U. Non-thermal atmospheric-pressure plasma possible application in wound healing. *Biomol Ther (Seoul)* 2014;22:477-490.
295. Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. *J Clin Periodontol* 2002;29:22-32.
296. Nunn ME. Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors. *Periodontol 2000* 2003;32:11-23.
297. Cionca N, Giannopoulou C, Ugolotti G, Mombelli A. Microbiologic testing and outcomes of full-mouth scaling and root planing with or without amoxicillin/metronidazole in chronic periodontitis. *J Periodontol* 2010;81:15-23.
298. Jeffcoat M, Page R, Reddy M, et al. Use of digital radiography to demonstrate the potential of naproxen as an adjunct in the treatment of rapidly progressive periodontitis. *J Periodontol Res* 1991;26:415-421.
299. Smaïl-Faugeron V, Fron-Chabouis H, Courson F, Durieux P. Comparison of intervention effects in split-mouth and parallel-arm randomized controlled trials: a meta-epidemiological study. *BMC Med Res Methodol* 2014;14:64.
300. Hujoel PP, Loesche W. Efficiency of split-mouth designs. *J Clin Periodontol* 1990;17:722-728.
301. Greenstein G. Full-mouth therapy versus individual quadrant root planing: A critical commentary. *J Periodontol* 2002;73:797-812.

302. Zijngel V, Meijer HF, Lie MA, et al. The recolonization hypothesis in a full-mouth or multiple-session treatment protocol: a blinded, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 2010;37:518-525.
303. Brayer WK, Mellonig JT, Dunlap RM, Marinak KW, Carson RE. Scaling and root planing effectiveness: the effect of root surface access and operator experience. *J Periodontol* 1989;60:67-72.
304. Badersten A, Nilveus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1984;11:63-76.
305. Caton J, Proye M, Polson A. Maintenance of healed periodontal pockets after a single episode of root planing. *J Periodontol* 1982;53:420-424.
306. Lopes BMV, Theodoro LH, Melo RF, Thompson GMdA, Marcantonio RAC. Clinical and microbiologic follow-up evaluations after non-surgical periodontal treatment with erbium: YAG laser and scaling and root planing. *J Periodontol* 2010;81:682-691.
307. Derdilopoulou FV, Nonhoff J, Neumann K, Kielbassa AM. Microbiological findings after periodontal therapy using curettes, Er: YAG laser, sonic, and ultrasonic scalers. *J Clin Periodontol* 2007;34:588-598.
308. Haffajee A, Cugini M, Dibart S, Smith C, Kent R, Socransky S. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1997;24:324-334.
309. Sbordone L, Ramaglia L, Gulletta E, Iacono V. Recolonization of the subgingival microflora after scaling and root planing in human periodontitis. *J Periodontol* 1990;61:579-584.
310. Koch GG, Paquette DW. Design Principles and Statistical Considerations in Periodontal Clinical Trials. *Ann Periodontol* 1997;2:42-63.
311. Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Som S, Thompson M, Torresyap G, Socransky SS. The effect of repeated professional supragingival plaque removal on the composition of the supra- and subgingival microbiota. *J Clin Periodontol* 2000;27:637-647.
312. Haffajee A, Arguello E, Ximenez-Fyvie L, Socransky S. Controlling the plaque biofilm. *Int Dent J* 2003;53:191-199.
313. Adriaens PA, Adriaens LM. Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontol 2000* 2004;36:121-145.
314. Kwon J-S, Kim YH, Choi EH, Kim C-K, Kim K-N, Kim K-M. Non-thermal atmospheric pressure plasma increased mRNA expression of growth factors in human gingival fibroblasts. *Clin Oral Investig* 2016;20:1801-1808.
315. Hughes TP, Caffesse RG. Gingival Changes Following Scaling, Root Planing and Oral Hygiene-A Biometric Evaluation. *J Periodontol* 1978;49:245-252.
316. Dobrynin D, Fridman G, Friedman G, Fridman A. Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue. *New J Phys* 2009;11:115020.
317. Haertel B, Wende K, von Woedtke T, Weltmann KD, Lindequist U. Non-thermal atmospheric-pressure plasma can influence cell adhesion molecules on HaCaT-keratinocytes. *Exp Dermatol* 2011;20:282-284.
318. Arjunan KP, Friedman G, Fridman A, Clyne AM. Non-thermal dielectric barrier discharge plasma induces angiogenesis through reactive oxygen species. *J R Soc Interface* 2011:rsif20110220.

319. Choi J-H, Lee H-J, Hong J-W, Kim G-C. The treatment with non-thermal plasma on human keratinocyte can block TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  mediated pro-inflammatory gene expressions. In: Plasma Sciences (ICOPS), 2015 IEEE International Conference on: IEEE, 2015:1-1.
320. Kalghatgi S, Friedman G, Fridman A, Clyne AM. Endothelial cell proliferation is enhanced by low dose non-thermal plasma through fibroblast growth factor-2 release. *Ann Biomed Eng* 2010;38:748-757.
321. Zoellner H, Chapple CC, Hunter N. Microvasculature in gingivitis and chronic periodontitis: disruption of vascular networks with protracted inflammation. *Microsc Res Tech* 2002;56:15-31.
322. Hung HC, Douglass CW. Meta-analysis of the effect of scaling and root planing, surgical treatment and antibiotic therapies on periodontal probing depth and attachment loss. *J Clin Periodontol* 2002;29:975-986.
323. Hujoel PP, Baab D, DeRouen T. Measures of treatment efficacy. *J Clin Periodontol* 1993;20:601-605.
324. Shi Q, Song K, Zhou X, et al. Effects of non-equilibrium plasma in the treatment of ligature-induced peri-implantitis. *J Clin Periodontol* 2015;42:478-487.
325. Jiang C, Chen M-T, Schaudinn C, et al. Pulsed atmospheric-pressure cold plasma for endodontic disinfection. *Plasma Science, IEEE Transactions on* 2009;37:1190-1195.
326. Schaudinn C, Jaramillo D, Freire M, et al. Evaluation of a nonthermal plasma needle to eliminate ex vivo biofilms in root canals of extracted human teeth. *Int Endod J* 2013;46:930-937.
327. Chen M, Zhang Y, Driver MS, Caruso AN, Yu Q, Wang Y. Surface modification of several dental substrates by non-thermal, atmospheric plasma brush. *Dent Mater* 2013;29:871-880.
328. Enoch S, Leaper DJ. Basic science of wound healing. *Surgery (Oxford)* 2008;26:31-37.
329. Guo Sa, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res* 2010;89:219-229.
330. Lindhe J, Lang NP. Clinical periodontology and implant dentistry: 6th ed. Blackwell Munksgaard :Copenhagen; 2015.
331. Sasaki H, Okamatsu Y, Kawai T, Kent R, Taubman M, Stashenko P. The interleukin-10 knockout mouse is highly susceptible to Porphyromonas gingivalis-induced alveolar bone loss. *J Periodontol Res* 2004;39:432-441.
332. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005;43:5721-5732.
333. Zhang L, Henson BS, Camargo PM, Wong DT. The clinical value of salivary biomarkers for periodontal disease. *Periodontol 2000* 2009;51:25-37.
334. Chapple IL. Periodontal diagnosis and treatment—where does the future lie? *Periodontol 2000* 2009;51:9-24.
335. Hou LT, Liu CM, Rossomando EF. Crevicular interleukin-1 $\beta$  in moderate and severe periodontitis patients and the effect of phase I periodontal treatment. *J Clin Periodontol* 1995;22:162-167.
336. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1 $\beta$  and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent* 2004;32:511-520.

337. Wassall RR, Preshaw PM. Clinical and technical considerations in the analysis of gingival crevicular fluid. *Periodontol 2000* 2016;70:65-79.
338. Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1 $\alpha$  and-1 $\beta$  in gingival crevicular fluid: Implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol Res* 1990;25:156-163.
339. Lamster IB, Oshrain RL, Gordon JM. Enzyme activity in human gingival crevicular fluid: considerations in data reporting based on analysis of individual crevicular sites. *J Clin Periodontol* 1986;13:799-804.
340. Teles R, Sakellari D, Teles F, et al. Relationships among gingival crevicular fluid biomarkers, clinical parameters of periodontal disease, and the subgingival microbiota. *J Periodontol* 2010;81:89-98.
341. Sorsa T, Hernández M, Leppilähti J, Munjal S, Netuschil L, Mäntylä P. Detection of gingival crevicular fluid MMP-8 levels with different laboratory and chair-side methods. *Oral Dis* 2010;16:39-45.
342. Prapulla DV, Sujatha PB, Pradeep A. Gingival crevicular fluid VEGF levels in periodontal health and disease. *J Periodontol* 2007;78:1783-1787.
343. Güneri P, Ünlü F, Yeşilbek B, et al. Vascular endothelial growth factor in gingival tissues and crevicular fluids of diabetic and healthy periodontal patients. *J Periodontol* 2004;75:91-97.
344. Tsai C-C, Ho Y-P, Chen C-C. Levels of interleukin-1 $\beta$  and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J Periodontol* 1995;66:852-859.
345. Becerik S, Öztürk VÖ, Atmaca H, Atilla G, Emingil G. Gingival crevicular fluid and plasma acute-phase cytokine levels in different periodontal diseases. *J Periodontol* 2012;83:1304-1313.
346. Liu C-M, Hou L-T, Wong M-Y, Lan WH. Comparison of Nd: YAG laser versus scaling and root planing in periodontal therapy. *J Periodontol* 1999;70:1276-1282.
347. Garlet G. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res* 2010;89:1349-1363.
348. Yamamoto M, Fujihashi K, Hiroi T, McGhee J, Van Dyke T, Kiyono H. Molecular and cellular mechanisms for periodontal diseases: role of Th1 and Th2 type cytokines in induction of mucosal inflammation. *J Periodontol Res* 1997;32:115-119.
349. Mocellin S, Panelli MC, Wang E, Nagorsen D, Marincola FM. The dual role of IL-10. *Trends Immunol* 2003;24:36-43.
350. Luchesi VH, Pimentel SP, Kolbe MF, et al. Photodynamic therapy in the treatment of class II furcation: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2013;40:781-788.
351. Kolbe MF, Ribeiro FV, Luchesi VH, et al. Photodynamic therapy during supportive periodontal care: clinical, microbiologic, immunoinflammatory, and patient-centered performance in a split-mouth randomized clinical trial. *J Periodontol* 2014;85:e277-e286.
352. Öngöz Dede F, Ballı U, Bozkurt Doğan Ş, Güven B. Interleukin-32 levels in gingival crevicular fluid and saliva of patients with chronic periodontitis after periodontal treatment. *J Periodontol Res* 2016.
353. Aziz AS, Kalekar MG, Benjamin T, Suryakar AN, Patil S, Bijle MNA. Short-Term Effectiveness of Scaling and Root Planning on Periodontal Parameters, Systemic

- Inflammatory, and Oxidative Stress Markers in Smokers with Chronic Periodontitis. *J Int Oral Health* 2015;7:16.
354. Lappin D, MacLeod C, Kerr A, Mitchell T, Kinane D. Anti-inflammatory cytokine IL-10 and T cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue. *Clin Exp Immunol* 2001;123:294-300.
355. Bekeschus S, von Woedtke T, Kramer A, Weltmann K-D, Masur K. Cold physical plasma treatment alters redox balance in human immune cells. *Plasma Med* 2013;3.
356. Lee OJ, Ju HW, Khang G, et al. An experimental burn wound-healing study of non-thermal atmospheric pressure microplasma jet arrays. *J Tissue Eng Regen Med* 2015.
357. Chapple CC, Kumar RK, Hunter N. Vascular remodelling in chronic inflammatory periodontal disease. *J Oral Pathol Med* 2000;29:500-506.
358. Türer ÇÇ, Durmuş D, Ballı U, Güven B. Effect of Non-surgical Periodontal Treatment on Gingival Crevicular Fluid and Serum Endocan, Vascular Endothelial Growth Factor-A and Tumor Necrosis Factor Alpha Levels. *J Periodontol* 2016:1-13.
359. Lee E, Ho Y-P, Ho K-Y, Tsai C-C, Yang Y-H. Potential role of vascular endothelial growth factor, interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 in periodontal diseases. *Kaohsiung J Med Sci* 2003;19:406-414.
360. Giannobile WV, Al-Shammari KF, Sarment DP. Matrix molecules and growth factors as indicators of periodontal disease activity. *Periodontol 2000* 2003;31:125-134.
361. Giannopoulou C, Cappuyns I, Cancela J, Cionca N, Mombelli A. Effect of photodynamic therapy, diode laser, and deep scaling on cytokine and acute-phase protein levels in gingival crevicular fluid of residual periodontal pockets. *J Periodontol* 2012;83:1018-1027.
362. Suthin K, Matsushita K, Machigashira M, et al. Enhanced expression of vascular endothelial growth factor by periodontal pathogens in gingival fibroblasts. *J Periodontol Res* 2003;38:90-96.
363. Barton A, Wende K, Bundscherer L, et al. Nonthermal plasma increases expression of wound healing related genes in a keratinocyte cell line. *Plasma Med* 2013;3.
364. Queiroz AC, Suaid FA, de Andrade PF, et al. Adjunctive effect of antimicrobial photodynamic therapy to nonsurgical periodontal treatment in smokers: a randomized clinical trial. *Lasers Med Sci* 2015;30:617-625.
365. Hernández M, Gamonal J, Tervahartiala T, et al. Associations between matrix metalloproteinase-8 and-14 and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid from subjects with progressive chronic periodontitis: a longitudinal study. *J Periodontol* 2010;81:1644-1652.
366. Matuliene G, Pjetursson BE, Salvi GE, et al. Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: results after 11 years of maintenance. *J Clin Periodontol* 2008;35:685-695.
367. Lee W, Aitken S, Sodek J, McCulloch C. Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *J Periodontol Res* 1995;30:23-33.
368. Gursoy UK, Könönen E, Pradhan-Palikhe P, et al. Salivary MMP-8, TIMP-1, and ICTP as markers of advanced periodontitis. *J Clin Periodontol* 2010;37:487-493.

369. Butler GS, Overall CM. Matrix metalloproteinase processing of signaling molecules to regulate inflammation. *Periodontol 2000* 2013;63:123-148.
370. Lund LR, Rømer J, Bugge TH, et al. Functional overlap between two classes of matrix-degrading proteases in wound healing. *The EMBO Journal* 1999;18:4645-4656.
371. Gutiérrez-Fernández A, Inada M, Balbín M, et al. Increased inflammation delays wound healing in mice deficient in collagenase-2 (MMP-8). *FASEB J* 2007;21:2580-2591.
372. Schmidt A, von Woedtke T, Bekeschus S. Periodic exposure of keratinocytes to cold physical plasma: an in vitro model for redox-related diseases of the skin. *Oxid Med Cell Longev* 2016;2016.
373. Chang JW, Kang SU, Shin YS, et al. Non-thermal atmospheric pressure plasma inhibits thyroid papillary cancer cell invasion via cytoskeletal modulation, altered MMP-2/-9/uPA activity. *PloS one* 2014;9:e92198.
374. Esen Ç, Alkan BA, Kırnay M, Akgül Ö, Işıkoğlu S, Erel Ö. The effects of chronic periodontitis and rheumatoid arthritis on serum and gingival crevicular fluid total antioxidant/oxidant status and oxidative stress index. *J Periodontol* 2012;83:773-779.
375. Bostanci V, Toker H, Senel S, Ozdemir H, Aydın H. Effect of chronic periodontitis on serum and gingival crevicular fluid oxidant and antioxidant status in patients with familial Mediterranean fever before and after periodontal treatment. *J Periodontol* 2014;85:706-712.
376. Akpınar A, Toker H, Ozdemir H, Bostanci V, Aydın H. The effects of non-surgical periodontal therapy on oxidant and anti-oxidant status in smokers with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol* 2013;58:717-723.
377. Toker H, Akpınar A, Aydın H, Poyraz O. Influence of smoking on interleukin-1beta level, oxidant status and antioxidant status in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients before and after periodontal treatment. *J Periodontol Res* 2012;47:572-577.
378. Sawamoto Y, Sugano N, Tanaka H, Ito K. Detection of periodontopathic bacteria and an oxidative stress marker in saliva from periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 2005;20:216-220.
379. Graves DB. Oxy-nitroso shielding burst model of cold atmospheric plasma therapeutics. *Clin Plasma Med* 2014;2:38-49.
380. Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000* 1997;14:12-32.
381. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000* 1994;5:78-111.
382. Nickles K, Scharf S, Röllke L, Dannewitz B, Eickholz P. Comparison of Two Different Sampling Methods for Subgingival Plaque: Subgingival Paper Points or Mouthrinse Sample? *J Periodontol* 2016:1-13.
383. Persson GR, Weibel M, Hirschi R, Katsoulis J. Similarities in the subgingival microbiota assessed by a curet sampling method at sites with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2008;79:2290-2296.
384. Jervøe-Storm P-M, AlAhdab H, Koltzsch M, Fimmers R, Jepsen S. Comparison of curet and paper point sampling of subgingival bacteria as analyzed by real-time polymerase chain reaction. *J Periodontol* 2007;78:909-917.

385. Sağlam M, Köseoğlu S, Taşdemir İ, Erbak Yılmaz H, Savran L, Sütçü R. Combined application of Er: YAG and Nd: YAG lasers in treatment of chronic periodontitis. A split-mouth, single-blind, randomized controlled trial. *J Periodontol Res* 2017.
386. Colombo APV, Teles RP, Torres MC, et al. Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. *J Periodontol* 2002;73:360-369.
387. Navidshad B, Liang JB, Jahromi MF. Correlation coefficients between different methods of expressing bacterial quantification using real time PCR. *Int J Mol Sci* 2012;13:2119-2132.
388. Stevenson DM, Weimer PJ. Dominance of Prevotella and low abundance of classical ruminal bacterial species in the bovine rumen revealed by relative quantification real-time PCR. *Appl Microbiol Biotechnol* 2007;75:165-174.
389. Feng Y, Gong J, Yu H, Jin Y, Zhu J, Han Y. Identification of changes in the composition of ileal bacterial microbiota of broiler chickens infected with *Clostridium perfringens*. *Vet Microbiol* 2010;140:116-121.
390. Ott SJ, Musfeldt M, Ullmann U, Hampe J, Schreiber S. Quantification of intestinal bacterial populations by real-time PCR with a universal primer set and minor groove binder probes: a global approach to the enteric flora. *J Clin Microbiol* 2004;42:2566-2572.
391. Haffajee AD, Teles RP, Socransky SS. The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota. *Periodontol 2000* 2006;42:219-258.
392. Soeroso Y, Akase T, Sunarto H, et al. The risk reduction of recurrent periodontal pathogens of local application minocycline HCl 2% gel, used as an adjunct to scaling and root planing for chronic periodontitis treatment. *Ther Clin Risk Manag* 2017;13:307.
393. Lazar L, Bica CI, Martha K, et al. The Use of Polymerase Chain Reaction (PCR) for Identifying Periodontopathogenic Bacteria-therapeutic Implications in Periodontal Disease. *Revista de Chimie* 2017;68:163-167.
394. Eick S, Mathey A, Vollroth K, et al. Persistence of Porphyromonas gingivalis is a negative predictor in patients with moderate to severe periodontitis after nonsurgical periodontal therapy. *Clin Oral Investig* 2016:1-10.
395. Pérez-Chaparro PJ, Duarte PM, Shibli JA, et al. The Current Weight of Evidence of the Microbiologic Profile Associated With Peri-Implantitis: A Systematic Review. *J Periodontol* 2016;87:1295-1304.
396. Renvert S, Wikström M, Dahlén G, Slots J, Egelberg J. Effect of root debridement on the elimination of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* from periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 1990;17:345-350.
397. Darby I, Mooney J, Kinane D. Changes in subgingival microflora and humoral immune response following periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 2001;28:796-805.
398. Colombo APV, Teles RP, Torres MC, et al. Effects of non-surgical mechanical therapy on the subgingival microbiota of Brazilians with untreated chronic periodontitis: 9-month results. *J Periodontol* 2005;76:778-784.
399. Brown SA, Whiteley M. A novel exclusion mechanism for carbon resource partitioning in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *J Bacteriol* 2007;189:6407-6414.

400. Ermolaeva SA, Sysolyatina EV, Kolkova NI, et al. Non-thermal argon plasma is bactericidal for the intracellular bacterial pathogen *Chlamydia trachomatis*. *J Med Microbiol* 2012;61:793-799.
401. Abonti TR, KOJIMA S, Hiromi S, et al. Irradiation effects of low temperature multi gas plasma jet on oral bacteria. *Dent Mater J* 2016;35:822-828.
402. Domínguez A, Gómez C, García-Kass AI, García-Nuñez JA. IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , total antioxidative status and microbiological findings in chronic periodontitis treated with fluorescence-controlled Er: YAG laser radiation. *Lasers Surg Med* 2010;42:24-31.
403. Gómez C, Domínguez A, García-Kass AI, García-Nuñez JA. Adjunctive Nd: YAG laser application in chronic periodontitis: clinical, immunological, and microbiological aspects. *Lasers Med Sci* 2011;26:453-463.
404. Cugini M, Haffajee A, Smith C, Kent R, Socransky S. The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. *J Clin Periodontol* 2000;27:30-36.
405. Gursoy UK, Pöllänen M, Könönen E, Uitto V-J. Biofilm formation enhances the oxygen tolerance and invasiveness of *Fusobacterium nucleatum* in an oral mucosa culture model. *J Periodontol* 2010;81:1084-1091.
406. Feng Z, Weinberg A. Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues. *Periodontol 2000* 2006;40:50-76.
407. Han YW, Shi W, Huang GT-J, et al. Interactions between periodontal bacteria and human oral epithelial cells: *Fusobacterium nucleatum* adheres to and invades epithelial cells. *Infect Immun* 2000;68:3140-3146.
408. Arndt S, Landthaler M, Zimmermann JL, et al. Effects of cold atmospheric plasma (CAP) on  $\beta$ -defensins, inflammatory cytokines, and apoptosis-related molecules in keratinocytes in vitro and in vivo. *PLoS One* 2015;10:e0120041.



## İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Kronik Periodontitis Hastalarında Cerrahi Olmayan Periodontal Tedaviye ilave Atmosferik Basınç Soğuk Plazma Kullanımının Klinik, Biyokimyasal ve Mikrobiyolojik Parametreler Üzerine Etkileri	
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		-	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/> 16.09.2015	
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>	
	İLAN	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
DİĞER:	<input type="checkbox"/>		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 128	Tarih: 16.09.2015	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. <b>İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.</b>		

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Yrd. Doç. Dr. Barış KARADAŞ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Yrd. Doç. Dr. Barış KARADAŞ / Başkan	Tıbbi Farmakoloji	İKÇÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Sibel AYIK (ÖKTEM)	Göğüs Hastalıkları	İKÇÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mehmet ÖZEREN	Kadın Hastalıkları ve Doğum	İKÇÜTEAH	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Abdi SAĞCAN	Kardiyoloji	Kent Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Doç. Dr. Muhammed İsa KARA	Ağız-Diş ve Çene Cerrahisi	İKÇÜDHF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Nihal OLGAC DÜNDAR	Çocuk Nörolojisi	İKÇÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Hatice Sabiha TÜRE	Nöroloji	İKÇÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Utku Kürşat ERCAN	Biyomedikal Mühendisliği	İKÇÜMMF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Yrd. Doç. Dr. Melih Kaan SÖZMEN	Halk Sağlığı	İKÇÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Mehmet DEMİREL	Deontoloji	İKÇÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Fatma GÜLMEZOĞLU	Hukuk	İKÇÜ	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Meral MEHREKULA	Sivil	İKÇÜ ATATÜRK EAH	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı

\*:Toplantıda Bulunma

## İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kronik Periodontitis Hastalarında Cerrahi Olmayan Periodontal Tedaviye ilave Atmosferik Basınç Soğuk Plazma Kullanımının Klinik, Biyokimyasal ve Mikrobiyolojik Parametreler Üzerine Etkileri
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi 35360 Karabağlar / İZMİR
	TELEFON	0 232 245 04 38 --- 0 232 244 44 44 / 1234
	FAKS	0 232 245 04 38
	E-POSTA	ikcetik@gmail.com

## Etik Kurul Başkanının

Unvanı/Adı/Soyadı: Yrd. Doç. Dr. Barış KARADAŞ

İmza:



BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Serhat KÖSEOĞLU			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Periodontoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	Yrd. Doç. Dr. Serhat KÖSEOĞLU			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZI VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input checked="" type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	16.09.2015	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	16.09.2015	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	16.09.2015	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	16.09.2015	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>





T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu

Giden Evrak Servisi  
Giden Evrak No: 120835  
Giden Evrak Tarihi: 2.10.2015  
Güvenlik Kodu: 487765  
İşlem Takip No: 1894405

Sayı : 71146310 [2015-AC-CE-129]

Konu : Tıbbi Cihaz Klinik Araştırması

Yrd. Doç. Dr. Serhat KÖSEOĞLU  
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Aydınlikevler Yerleşkesi Dış Hekimliği Fakültesi  
Periodontoloji Anabilim Dalı aydınlıkevler Mah. Cemil Meriç Bulvarı No:58  
ÇİĞLİ / İZMİR

İlgi : 17.09.2015 tarihli başvurunuz. (Kurumumuz 29.09.2015 tarihli ve 1894405 sayılı yazı)

Sorumlu araştırmacısı olduğunuz aşağıdaki tabloda bilgileri verilen akademik amaçlı klinik araştırma başvurunuz 06.09.2014 tarihli ve 29111 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği gereğince incelenmiş olup araştırmanın başlaması uygun bulunmuştur.

Araştırmanın adı	Kronik Periodontitis Hastalarında Cerrahi Olmayan Periodontal Tedaviye İlave Atmosferik Basıncılı Soğuk Plazma Kullanımının Klinik, Biyokimyasal ve Mikrobiyolojik Parametreler Üzerine Etkileri
Koordinatör merkez	İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı
Koordinatör / Sorumlu araştırmacı	Yrd. Doç. Dr. Serhat KÖSEOĞLU
Protokol tarihi / versiyon no	16.09.2015 V:1
BGOF tarihi / versiyon no	16.09.2015 V:1
ORF tarihi / versiyon no	16.09.2015 V:1
Araştırma broşürü tarihi / versiyon no	16.09.2015 V:1

Bu kapsamda yukarıda ayrıntıları verilen çalışma ile ilgili olarak:

- Araştırmanın başlamaması, iptali veya sonlandırılması halinde tarafımıza bilgi verilmesi,
- Araştırma süresince ortaya çıkan advers olayların/etkilerin tarafımıza bildirilmesi,
- Araştırmanın Helsinki Bildirgesi’nin son metni, İyi Klinik Uygulamalar İlkeleri ve ilgili mevzuata uygun olarak yürütülmesi,
- Araştırmada kullanılan her türlü araştırma ürünü ve ürünlerin kullanılmasına mahsus her türlü malzemeler ile muayene, tetkik, tahlil ve tedavilerin bedeli için gönüllüden herhangi bir ücret talep edilmemesi,
- Araştırmaya ait yıllık bildirim formunun düzenli olarak Bakanlığımıza gönderilmesi hususlarında bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Dr. Ali Sait SEPTİOĞLU  
Kurum Başkanı a.

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu uyarınca elektronik olarak imzalandıktan sonra Kurum Başkan Yardımcısı Doküman <https://e-islemler.titck.gov.tr/eimza/eimzakontrol.aspx> adresinden kontrol edilebilir.  
**Güvenli elektronik imzalı aslı ile aynıdır.**

**Araştırmanın Adı :** Kronik Periodontitis Hastalarında Cerrahi Olmayan Periodontal Tedaviye ilave Atmosferik Basınç Soğuk Plazma Kullanımının Klinik, Biyokimyasal ve Mikrobiyolojik Parametreler Üzerine Etkileri

Tarih:

## BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 15)

### LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

### ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Kronik periodontitis hastalarında cerrahi olmayan periodontal tedaviye ilave Atmosferik Basınç Soğuk Plazma Kullanımının hastaların klinik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik değerleri üzerine etkilerinin olup olmadığının araştırılmasıdır.

### KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Bu çalışmaya dahil edilebilmeniz için

- Sistemik olarak sağlıklı olmanız , herhangi bir ilaç kullanıyor olmamanız
- Sigara içmemeniz
- Son 6 ay içinde periodontal tedavi görmemiş olmanız
- Ağızınızda en az 12 diş bulunması ve dişlerinizde ileri kemik yıkımı periodontitis bulunması
- Periodontitisten etkilenmiş en az 4 dişiniz olmalı ve 2' şerli ayrı çenelerde-bölgelerde bulunmalı
- Son 3 ay içerisinde antienflamatuvar, son 6 ay içerisinde antibiyotik ve sistemik kortikosteroid ilaç kullanmamış olmanız
- Hamile ve laktasyon döneminde olmamanız
- Kalp pili, epilepsi pili vb. taşıyor olmanız
- Kontrol ve test grubu için seçilecek dişlerde bulunan ceplerin birbirine komşu olmaması, seçilen dişlerin kronlu veya köprü ayağı olmaması olmanız gerekir.

### NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

*Dişler, etrafında bulunan kemiğe liflerle sıkıca bağlanmıştır. Dişlerin yüzeyinde , yeterli fırçalama yapılmadığı taktirde içerisinde hastalık yapıcı mikroorganizmaları içeren plak oluşumu gözlenir. Dişe yapışık olan bu plak, tükürük içerisindeki minerallerin çökmesi sonucu diştaşına dönüşebilir. Yüksek miktarda bakteri içeren plak ve diş taşları dişi çevreleyen dişeti ve liflerinin hastalanmasına-iltihaplanmasına neden olur. Dişetleriniz kızarır, şişer, kolaylıkla kanar. İltihap ilerlerse etraftaki kemiğe ulaşır, alttaki kemik eriyip dişi çevreleyen lifler parçalanır. Diş, dişetinde ayrılarak cep oluşumu gerçekleşir veya dişeti çekilmesi sonucu dişlerin kökleri açığa çıkar. Dişlerin etrafındaki kemik erimiştir. Artık periodontitis gelişmiştir ve mutlaka tedavi edilmelidir. Hastalık ağrısız, yavaş seyirli ilerlediği için tedavisinin ihmal edilmesi durumunda diş kaybı, kemik erimesi, çığneme fonksiyonunun azalmasına bağlı eklem rahatsızlıkları, estetik sorunlar yaşanabilir. Ayrıca dişlerin etrafındaki iltihap kan yoluyla bütün vucuda yayılarak başka organları hastalandırabilir. Periodontitis tedavisi dişler üzerindeki tüm eklentilerin -diş taşı, plak, hastalıklı kök yüzeylerinin- temizlenmesini kapsar. Tedavi El aletleri ile diş taşları sıyrılarak-kazınarak ve ultrasonic aletlerle taşlar parçalanarak yapılır. Tedavi öncesi hastalığın şiddetini ve aktivitesini ölçmek amacıyla kemik yıkım miktarları(sondama cep derinliği)ve dişeti çekilme miktarı(klinik ataşman seviyesi), diş yüzeylerinde biriken plak miktarı(plak index) ve kanayan dişeti miktarı(gingival index)ölçülecektir. İltihap esnasında vucuttan salgılanan enzimlerin(sitokin) ölçümü ile periodontitis şiddeti arasında bağlantı bulunmaktadır. Diğer seansta cep oluşmuş hastalıklı dişlerinizden dişeti cep (dos)sıvısı özel kağıtlar ile toplanacak enzim miktarları değerlendirilecek zamana kadar saklanacaktır. Yine dişeti cebi içinde bulunan bakterilerin miktarı ve türünün periodontal hastalıkla ilişkisi dişeti cebinde el aletleri ile alınacak plak örneklerinden yapılacak ölçümlerle değerlendirilecektir. Bu işlemler(cep sıvısı ve plak örneği alınması)ağrısız anestezi gerektirmeyen*

Tarih: 16.09.2015

Versiyon No: 1

işlemlerdir. Sonrasında aynı seansta diş taşlarınız temizlenecektir. Bir sonraki seans hastalanmış kök yüzeyleri el aletleriyle temizlenecektir. Acı veren bir işlem değildir ancak periodontal başlangıç tedavisinde diş yüzeyi temizliği(detertraj) işleminde nadiren, hastalıklı kök yüzeyi düzleştirilmesi işleminde daha sıklıkla lokal anestezi altında çalışmayı gerektirebilir. Tedavi sonrasında hafif-orta düzeyde soğuk hassasiyeti yaşayabilirsiniz. Daha sonra hassasiyet azalacaktır.

Kök yüzeylerinde oyuklar bulunabilmekte, kullandığımız el aletleri her zaman dişin tüm yüzeylerine ulaşamamakta ayrıca plak içindeki bakteriler dişetine gizlenebilmektedir. Bu durumda tedavi yeterli gelmemekte ilave yöntemler ile bakteriler yok edilmeye çalışılmaktadır. Bu amaçla dişeti cebi içerisine atmosferik basınç soğuk plazma(ABSP) uygulanacaktır. Maddenin 4. hali olan plazma, herhangi bir gazı yüksek enerji uygulanması sonrası gazın kısmen iyonlaşması sonucu oluşur. Plazma elektriksel olarak oluşturulabilir ve basit anlamda yünlü kazağın saça sürtünmesi esansında duyulan çitirtılar plazma oluşumudur. Plazma yüksek elektrik alan altında oluşturulur ve akımı düşük olduğu için elektrik çarpması riski yoktur. Plazma içerdiği kimyasal bileşim sayesinde bakteri, spor, mantar, virüs gibi birçok mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal etkinlik gösterdiği, dezenfeksiyon ve yüksek dozlarda sterilizasyon sağladığı uzun yıllardır bilinmektedir.

Laboratuvar ve klinik çalışmalar ile düşük doz ABSP uygulamasının insan ve hayvan hücrelerinde zarar oluşturmaksızın, canlı yüzeylerde dezenfeksiyon sağladığı ve yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri bulunduğu gösterilmiştir. ABSP'nin dişeti cebi içindeki bakterilere etkili olacağı düşünülmektedir. İşlem cihazın dişeti cebi için özel tasarlanmış ucunun cebe yerleştirilmesini takiben 2,5 dk boyunca dezenfeksiyon sağlanmasını içerir. Ağrılı bir işlem değildir ancak bazı özel durumlarda hassasiyet oluşabilmektedir. Gerektiği takdirde lokal anestezi yapılarak işleme devam edilir.

Periodontal dokuların fizyolojik iyileşmesi beklenip, dişeti cebi sıvısı ve plak örnekleri 1. ve 3. aylarda tekrar alınacak ve klinik parametreler kayıt edilecektir

#### **SORUMLULUKLARIM NEDİR?**

Araştırma ile ilgili olarak Uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız, gebe kalmanız veya tedavi esnasında sistemik bir hastalığınızdan tanı almanız ve ilaç başlanması durumlarda araştırmacı sizi uygulama dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

#### **KATILIMCI SAYISI NEDİR?**

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı .....25..... 'dir.

#### **KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?**

Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre .....3,5 ay.....dir.

#### **ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?**

Bu araştırmada sizin için beklenen yararlar Periodontal cepler yok edilebilir ve periodontal hastalığın ilerlemesi engellenebilir. Bu araştırmada uygulanan tedavi ile hastalığınızın kontrol altına alınabilir ya da araştırma sonucunda elde edilen bilgilerle(klinik ölçümler, enzim ve plak bakterileri ölçümü) hastalığınızın tanısının konulması sağlanabilir.

Ayrıca araştırmacının sonuçları başka insanların yararına kullanılabilir.

#### **ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?**

Size bu araştırmada başlangıç geleneksel periodontal tedavi (diştaşı temizliği ve hastalıklı kök yüzeyi temizliği) ve atmosferik basınç soğuk plazma uygulanacaktır. Bu uygulama ile ilgili gözlenebilecek istenmeyen etkiler arasında tedavi esnasında hassasiyet bulunan dişlerinizde biraz ağrı hissedebilirsiniz. Bu tip durumlarda ağrı hissedilen dişlere lokal anestezi yapılarak çalışılacaktır.

• Diştaşı temizliği, kök yüzeyi düzleştirilmesi ve atmosferik basınç soğuk plazma işlemlerinden sonra her zaman olmamakla birlikte dişlerde geçici bir hassasiyet oluşabilmektedir.

• İşlemlerde lokal anestetik kullanıldığından dolayı, herhangi bir alerjik durumunuz varsa mutlaka hekiminize bildirmelisiniz. Alerjik reaksiyonlar sonu ölümlü biten olaylara neden olabilmektedir.

• Plazma uygulaması esnasında çok nadir görülmeyle beraber, uygulama bölgesinde çok hafif, ağrısız, karıncalanma hissi oluşabilir

Klinik uygulama dönemleri sırasında karşılaşılabilecek sorunlar tedavi edilen dişetinde enfeksiyon oluşması riskidir.

#### **GEBELİK**

**Atmosferik basınç soğuk plazma' nın doğmamış fetüs ya da anne sütü emen çocuk için riskleri bilinmemektedir. Gebe ya da çocuk emziren kadınlar bu çalışmaya katılamazlar. En iyisi gebe olmadığınızdan ve çalışma boyunca gebe kalmamaya niyetli olduğunuzdan emin olmalısınız. Çocuk doğurma potansiyeliniz varsa çalışma doktoru sizinle uygun doğum kontrol yöntemlerini konuşacaktır. Çalışma sırasında gebe kaldığınızdan şüphelenirseniz, hemen çalışma doktoruna haber vermelisiniz. Gebe iseniz izniniz alınmadan araştırmadan çıkarılacaksınız.**

## **ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİLEN İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?**

Çalışma süresince birlikte kullanımının sakıncalı olduğu ilaç ve besin bulunmamaktadır.

## **HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?**

Araştırmaya genel sağlığınızla ilgili bir hastalığınızın olması ve bununla ilgili ilaç kullanılması durumunda, kalp pili, epilepsi pili vb. cihazlar taşımanız durumunda ,gebe iseniz ve sigara içiyorsanız baştan araştırmaya dahil edilmeyeceksiniz. Uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız, gebe kalmanız veya tedavi esnasında sistemik bir hastalığınızdan tanı almanız ve ilaç başlanması durumunda, tedavinin etkinliğini arttırmak vb. nedenlerle doktorunuz sizin izniniz olmadan sizi çalışmadan çıkarabilir.

## **DİĞER TEDAVİLER NELERDİR?**

Diştaşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesi uygulamalarının, derin periodontal ceplerde her zaman başarılı olamadığı görülmüştür. Bunun bir nedeni el aletlerinin, kökler arası derin bölgelere, kök yüzeyindeki yiv, oluklar ve yapısal düzensizlikler gibi alanlara yeterince ulaşamamasıdır. Diğer bir neden ise A.actinomycescomitans, P.gingivalis, F.nucleatum ve T.denticola gibi konak dokusu hücrelerin arasına gizlenebilme yeteneğine sahip bakterilerin yok edilememesidir. Dişeti cebi içerisindeki bakterilerin yok edilmesi için sistemik antibiyotikler kullanılabilir.Antibiyotiklerin dezavantajı yan etkilerinin fazla olması, cepiçi sıvısı içine yeteri kadar ulaşamaması nedeniyle etkinliğinin düşük olmasıdır. Cep içerisine dezenfektan bir kimyasal (klorheksidin) uygulanabilir ancak bu dezenfektanlar dişetleri için zehirli olabilmekte, iyileşmeyi geciktirdiği bazı araştırmacılar tarafından düşünülmektedir. Yukarıdaki araştırmada uygulanacak tetkik ve tedaviye yönelik girişimler dışında hastalığımla ilgili başka uygun yöntemlerin var olduğunu, ancak bu araştırmada ağızımın bir yarısına uygulanmayacağını öğrendim. Eğer yukarıdaki çalışmaya katılmayı kabul etmezsem sözü edilen öteki tedavileri alma hakkına sahip olduğumun bilincindeyim.

## **HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK/SORUMLULUK KİMDEDİR VE NE YAPILACAKTIR?**

Çalışma sırasında hasta açısından zararlı hiçbir etki beklenmemektedir. Bu çalışmaya katıldığım için zarar göreceğim olursam, gerekli tıbbi bakımımın yerine getirilmesi için ilgili sağlık birimiyle irtibata geçilmede sorumluluğun sorumlu araştırmacı / doktor' da bulunduğu konusunda bilgilendirildim. Çalışma ilacı ya da uygulanan işleme bağlı olarak gelişebilecek her tür hasara (sakatlanma ve ölüm dahil) karşı güvencede olduğum bana bildirildi.

## **ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?**

Uygulama süresi boyunca, zorunlu olarak araştırma dışı ilaç almak durumunda kaldığınızda Sorumlu Araştırmacıyı önceden bilgilendirmek için, araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için Diğdem KÜÇÜK: 0 5067100266 / 0 232 325 40 40/2600

Serhat KÖSEOĞLU:05303632444/ 0 232 325 40 40/2600 ' ulaşabilirsiniz.

## **ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?**

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında olduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

## **ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR ?**

Çalışmayı destekleyen kurum izmir katip çelebi üniversitesi' dir.

### **ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?**

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

### **ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?**

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; reddetme veya vazgeçme durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır. Araştırmacı, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle isteğiniz dışında ancak bilginiz dahilinde sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu durumda da sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, araştırma sırasında alınan dişeti oluğu sıvısı ve plak örnekleri başka bir çalışmada kullanılmayacak olup, çalışma sonrasında sodyum hipoklorit ile imha edilip tıbbi atık olarak atılacaktır.

### **KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?**

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmacının izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Araştırma sırasında alınan dişeti oluğu sıvısı ve plak örnekleri başka bir çalışmada kullanılmayacak olup, çalışma tamamlandıktan sonra sodyum hipoklorit ile imha edilip tıbbi atık olarak atılacaktır. Siz de istediğinizde, çalışma tamamlandığında kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

### **Çalışmaya Katılma Onayı:**

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren ...6... sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyorum ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

<b>1.1.1 GÖNÜLLÜNÜN</b>		<b>1.1.2 İMZASI</b>
<b>1.1.2.1 ADI ve SOYADI</b>		
<b>ADRESİ</b>		
<b>TEL. veya FAKS</b>		
<b>TARİH</b>		
<b>VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN</b>		<b>1.1.3 İMZASI</b>

<b>1.1.3.1 ADI ve SOYADI</b>		
<b>ADRESİ</b>		
<b>TEL. veya FAKS</b>		
<b>TARİH</b>		

<b>ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ</b>		<b>İMZASI</b>
<b>1.1.3.2 ADI ve SOYADI</b>		
<b>1.1.3.3 TARİH</b>		

<b>1.1.4 GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK</b>		<b>1.1.5 İMZASI</b>
<b>1.1.5.1 ADI ve SOYADI</b>		
<b>1.1.5.2 GÖREVİ</b>		
<b>1.1.5.3 TARİH</b>		



## **ÖZGEÇMİŞ**

20.06.1986'da Samsun'da doğdum. Lise öğrenimimi yaptığım Samsun Anadolu Lisesi'nden 2004 yılında mezun oldum. Ardından girdiğim İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden 2009 yılında mezun oldum. 2012 yılının Eylül ayında girdiğim "Diş Hekimliğinde Uzmanlık Sınavı"nı kazanarak İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık öğrenimime başladım. Halen aynı Anabilim Dalı'nda uzmanlık öğrencisi olarak görev yapmaktayım. Evli ve bir çocuk annesiyim.

