

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL PERİODONTİTİSLİ
RATLARDA DIŞ YÜZEYİ TEMİZLİĞİ VE
KÖK YÜZEYİ DÜZLEŞTİRİLMESİNE
İLAVETEN UYGULANAN DİYOT LAZER
UYGULAMASININ HİSTOMORFOMETRİK
VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELER
ÜZERİNE ETKİLERİ**

DOKTORA TEZİ

Mustafa Özay USLU

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ ve SELÇUK
ÜNİVERSİTESİ PERİODONTOLOJİ ANABİLİM
DALI ORTAK DOKTORA PROGRAMI**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Abubekir ELTAS

MALATYA-2014

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

**DENEYSEL PERİODONTİTİSLİ
RATLARDA DIŞ YÜZEYİ TEMİZLİĞİ VE
KÖK YÜZEYİ DÜZLEŞTİRİLMESİNE
İLAVETEN UYGULANAN DİYOT LAZER
UYGULAMASININ HİSTOMORFOMETRİK
VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELER
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Mustafa Özay USLU

Danışman Öğretim Üyesi: Doç. Dr. Abubekir ELTAS

Ortak Tez Danışmanı: Prof. Dr. İsmail MARAKOĞLU

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2013/90 proje numarası ile desteklenmiştir.**

MALATYA-2014

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Periodontoloji Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Tamer ATAÖĞLU Selçuk Üniversitesi	
Ortak Tez Danışmanı	Prof. Dr. İsmail MARAKOĞLU Selçuk Üniversitesi	
Danışman	Doç. Dr. Abubekir ELTAS İnönü Üniversitesi	
Üye	Doç. Dr. Kamile ERCİYAS Gaziantep Üniversitesi	
Üye:	Doç. Dr. Kemal ÜSTÜN Gaziantep Üniversitesi	

ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu/...../ 20.... tarih ve 20.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdür V.

TEŞEKKÜR

Doktora süresince bana her konuda anlayış gösteren, hem klinik hem de akademik çalışmalarda bilgilerini, tecrübesini ve önerilerini paylaşan ve yardımlarını esirgemeyen doktora danışmanım Sayın Doç. Dr. Abubekir ELTAS'a;

Eğitimim sırasında değerli bilgi ve görüşlerini esirgemeyen, sabır göstererek bu tezin gerçekleşmesinde destek sağlayan ortak tez danışmanım Sayın Prof. Dr. İsmail MARAKOĞLU'na;

Doktora eğitimime katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Tamer ATAĞLU'na, Prof. Dr. Mehtikar GÜRSEL'e, Prof. Dr. Sema HAKKI'ya ve Prof. Dr. Nilgün Özlem ALPTEKİN'e;

Araştırmamın laboratuvar analizlerinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Kazım Şahin ve Yrd. Doç. Dr. Mehmet Tuzcu'ya;

Radyografik ölçümlerde yardımcı olan Sayın Dt. Numan Dedeoğlu'na;

Tez çalışmamda hayvan deneylerinde yardımcı olan sevgili meslektaşım Sayın Dt. Serkan DÜNDAR'a;

Tez çalışmamda teknik desteğini esirgemeyen sevgili meslektaşım Sayın Dt. Sedat ALTINDIŞ'e;

Doktoram süresince emeği geçen tüm Periodontoloji Anabilim Dalı asistan ve personeline;

Bu süreçte yanımda olan tüm dost ve arkadaşlarıma;

Projemizi desteklediği için İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne;

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyip bugünlere gelmemi sağlayan babam Ahmet USLU'ya, annem Ayşe USLU'ya, ablam Opr. Dr. Sevilay ÜNAL'a ve abim Dr. Yusuf Eray Uslu'ya;

ve iyi ve kötü günlerimde yanımda olup desteğini hep arkamda hissettiğim sevgili eşim Filiz Akkabak Uslu'ya;

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, deneysel periodontitis modelinde diyet lazer tedavisinin diş yüzeyi temizliği (DYT) ve kök yüzeyi düzleştirilmesine (KYD) ilave olarak uygulandığında periodontal dokulara olan etkisinin radyolojik, histolojik, biyokimyasal ve immünolojik olarak değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde üretilen ortalama 230 g ağırlığında 60 adet Wistar-Albino türü rat kullanıldı. Tüm ratların sağ ve sol birinci mandibular azı dişleri etrafına ligatür bağlanarak deneysel periodontitis oluşturuldu. On bir gün sonra ligatürler alınarak ratlar iki gruba ayrıldı: Kontrol grubu (n=30), sadece DYT & KYD ile tedavi edilirken; Lazer grubu (n=30), DYT & KYD'ye ilave diyet lazer (GaAlAs, 810 nm, 1 W, 10 J, 20 s) tedavisi uygulandı. Tedaviden 7, 15 ve 30 gün sonra her gruptan 10 rat kurban edildi. Histopatolojik inceleme ratların sol çenelerinde gerçekleştirildi. Radyografik inceleme için ratların sağ çenesi kullanıldı. Radyografi işleminden sonra sağ çeneden alınan dişeti örneklerindeki IL-1 β , IL-6, TNF- α , MMP-8, RANK, RANKL, OPG ve MPO western blot yöntemi ile değerlendirilirken ratlardan alınan serum örneklerindeki CRP ise nefelometrik yöntem ile değerlendirildi.

Bulgular: Gruplar arasında mesial periodontal kemik oranı için anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p \geq 0.05$). Distal periodontal kemik oranı lazer grubunda kontrol grubuna göre sadece T2 zamanında anlamlı derecede yüksek bulundu ($p \leq 0.01$). IL-1 β , IL-6, TNF- α , MMP-8, RANK, RANKL, OPG ve MPO seviyeleri lazer grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p \leq 0.05$). Enflamatuvar hücre infiltrasyonunun (EHİ) her iki grupta zamanla azalma gösterdiği görüldü. Lazer grubunda tüm zamanlarda EHİ düzeyi, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p \leq 0.01$). Gruplar arasında CRP için anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p \geq 0.05$).

Sonuç: Bu çalışmanın sınırları içerisinde; deneysel periodontitis oluşturulmuş ratlarda diyot lazer uygulamasının, DYT & KYD'ye ilave uygulandığında doku yıkımında rol oynayan bazı medyatörleri ve enflamasyonu azaltarak periodontal hastalıkların tedavisinde alternatif bir tedavi olabileceğini düşünüyoruz. Diğer taraftan diyot lazer uygulamasının periodontal dokulara etkilerinin değerlendirilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: cerrahi olmayan periodontal tedavi, deneysel periodontitis, diyot lazer, enflamasyon

ABSTRACT

EFFECTS OF DIODE LASER APPLICATION AS AN ADJUNCT TO SCALING AND ROOT PLANING ON HISTOMORPHOMETRIC AND BIOCHEMICAL PARAMETERS IN RATS WITH EXPERIMENTAL PERIODONTITIS

Aim: In this study, we aimed to evaluate the effect of diode laser treatment radiologically, histologically, biochemically and immunologically when applied adjunctive to scaling and root planing (SRP) in an experimental periodontitis model.

Material and Methods: In the study, average 230 g weight of Wistar-Albino strain (n=60) rats were used and the rats were provided from Inonu University Center of Experimental Animal Research and Reproduction. Experimental periodontitis was induced by ligature at the right and left first mandibular molar teeth in all rats. After 11 days, the ligature was removed and rats were divided into two groups. Control group (n=30), received only SRP treatment; Laser group (n=30), administered diode laser (GaAlAs, 810 nm, 1 W, 10 J, 20 s) treatment adjunctive to SRP. Ten rats in each group were sacrificed after 7, 15 and 30 days. Histopathological examination was performed in the left mandible of rats. The right mandible of rats were used for radiographic examination. After radiography, IL-1 β , IL-6, TNF- α , MMP-8, RANKL, RANK, OPG and MPO were evaluated by western blot in the gingival specimens from the right mandible and CRP was assessed by nephelometric method from serum samples of rats.

Results: There were no significant differences between groups for mesial periodontal bone ratio ($p \geq 0.05$). In the laser group, distal periodontal bone ratio was significantly higher only in T2 compared to control group ($p \leq 0.01$). IL-1 β , IL-6, TNF- α , MMP-8, RANK, RANKL, OPG and MPO levels in the laser group was statistically significantly lower compared to the control group ($p \leq 0.05$). Inflammatory cell infiltration decreased over time in both groups. Inflammatory cell infiltration level in the laser group was statistically significantly lower than the

control group at all times ($p \leq 0.01$). There were no significant differences between groups for CRP ($p \geq 0.05$).

Conclusion: Within the limits of this study; we suggest that diode laser administration is an alternative treatment by reducing bone loss and some mediators which play roles in tissue destruction when applied in addition to SRP in rats with experimental periodontitis. On the other hand, more researches need for the assessment of the effects of diode laser application to periodontal tissues.

Key Words: non-surgical periodontal therapy, experimental periodontitis, diode laser, inflammation

İÇİNDEKİLER**Sayfa No**

ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Periodontal Hastalıklar.....	4
2.2. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması	6
2.3. Kronik Periodontitis	8
2.4. Hastalığın İlerlemesi	9
2.5. Kronik Periodontitisin Etyolojisi	10
2.6. Periodontal Hastalıkların Patogenezi ve Doku Yıkımı	11
2.7. Sitokinler	15
2.7.1. İnterlökin-1 β	18
2.7.2. İnterlökin-6.....	20
2.7.3. Tümör Nekroz Faktör-Alfa	22
2.8. C Reaktif Protein.....	23
2.9. Matriks Metalloproteinazlar.....	26
2.9.1. MMP-8	27
2.10. OPG/RANK/RANKL	29
2.10.1. Osteoprotegerin.....	29

2.10.2. RANK	31
2.10.3. RANKL.....	31
2.11. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri	33
2.12. ROT ve Periodontal Hastalık	34
2.13. Myeloperoksidaz	35
2.14. Periodontal Tedavinin Amaçları ve Uygulanan Teknikler	36
2.15. Cerrahisiz Periodontal Tedavi.....	36
2.16. Lazerler	38
2.16.1. Temel Lazer Fiziği ve Özellikleri	38
2.16.2. Periodontal Tedavide Lazerler	40
2.16.3. Diyet Lazerler	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	43
3.1. Deney Hayvanları	43
3.2. Deneysel Çalışma Modeli	43
3.3. Doku ve Kan Örneklerinin Alımı.....	47
3.4. İmmünojik Analizler	48
3.4.1. Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi.....	48
3.4.2. Total Protein Miktarının Spektrofotometrik Analizi	51
3.4.3. SDS-PAJE Analizleri	52
3.4.4. Western Blotlama.....	56
3.5. Histolojik Analizler	57
3.6. Radyografik Ölçümler ve Değerlendirilmesi	58
3.7. Biyokimyasal Analiz	59
3.8. Verilerin İstatistiksel Analizi	60
4. BULGULAR	61
4.1. Western Blot Bulgular	61

4.2. Histopatolojik Bulgular.....	73
4.3. Radyografik Bulgular.....	78
4.4. Biyokimyasal Bulgular	82
5. TARTIŞMA	84
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	97
KAYNAKLAR	99
EK: Etik Kurul Kararı.....	121
ÖZGEÇMİŞ.....	123

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BSA: Bovine serum albumin

CRP: C-reaktive protein

DAB: 3,3'-diaminobenzidintetrahidroklorid

DOS: Dişeti oluğu sıvısı

DYT & KYD: Diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesi

E₂: Estradiol

EHİ: Enflamatuvar hücre infiltrasyonu

ELISA: Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay

ESM: Ekstrasellüler matriks

GI: Gingival indeks

H&E: Hematoksilen ve Eozin

IFN: İnterferon

Ig: İmmünglobülin

IL: İnterlökin

IL-Ra: İnterlökin reseptör antagonisti

KAS: Klinik ataçman seviyesi

LASER: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

LPS: Lipopolisakkarit

MDA: Malondialdehit

MDP: Mikrobiyal dental plak

MMP: Matriks Metalloproteinaz

MPO: Myeloperoksidaz

Nd:YAG: Neodymium-doped yttrium aluminium garnet

NF- κ B: Nükleer faktör kappa B

OPG: Osteoprotegerin

PMNL: Polimorfonukleer lökosit

PGE₂: Prostaglandin E₂

PI: Plak indeksi

RANK: Nükleer faktör kappa B'nin reseptör aktivatörü

RANKL: Nükleer faktör kappa B ligandın reseptör aktivatörü

ROT: Reaktif oksijen türü

SCD: Sondlama cep derinliği

SDS-PAJE: Sodyum dodesil sülfat - poliakrilamid jel elektroforezi

SK: Sondlamada kanama

TIMP: Matriks metalloproteinaz doku inhibitörü (Tissue Inhibitor of Metalloproteinase)

TNF: Tümör nekroz faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Periodontitisin patogenezinin şematik gösterimi	14
Şekil 2.2. CRP'nin enflamatuvar süreçteki görevleri.	24
Şekil 2.3. Öncül osteoklastın olgun osteoklasta farklılaşmasında OPG, RANK ve RANKL'in rolü	30
Şekil 2.4. Lazer uygulamasının dokudaki etkileri	40
Şekil 3.1. Deneysel periodontitis çalışma grupları ve uygulamaları.	44
Şekil 3.2. Ratlarda sütür bağlanarak deneysel periodontitis oluşturulması.	45
Şekil 3.3. 11. Günde sütür bağlanan dişte plak birikimi.	46
Şekil 3.4. DYT & KYT ve Diyet lazer uygulanması.	46
Şekil 3.5. Ratların kalbinden kan alınması.	47
Şekil 3.6. Dokuların homojenize edilmesi ve blotlama.	54
Şekil 3.7. Poliakrilamid jel elektroforezi için kullanılan düzenek.	55
Şekil 3.8. Mesial ve distal periodontal kemik oranlarının gösterimi	59
Şekil 4.1. Lazer ve kontrol gruplarının IL-1 β seviyeleri.	61
Şekil 4.2. Lazer ve kontrol gruplarının IL-6 seviyeleri.	63
Şekil 4.3. Lazer ve kontrol gruplarının TNF- α seviyeleri.	64
Şekil 4.4. Lazer ve kontrol gruplarının MMP-8 seviyeleri.	66
Şekil 4.5. Lazer ve kontrol gruplarının MPO seviyeleri.	67
Şekil 4.6. Lazer ve kontrol gruplarının RANK seviyeleri.	69
Şekil 4.7. Lazer ve kontrol gruplarının RANKL seviyeleri.	70
Şekil 4.8. Lazer ve kontrol gruplarının OPG seviyeleri.	72

Şekil 4.9. Jel Elektroforezde Yürütülen Proteinlerin Oluşturduğu Bantlar	74
Şekil 4.10. Lazer ve kontrol gruplarının EHİ seviyeleri.....	139
Şekil 4.11. DYT & KYD uygulaması yapıldıktan 7 gün sonraki histopatolojik görünüm	75
Şekil 4.12. DYT & KYD'ye ilave diyet lazer uygulaması yapıldıktan 7 gün sonraki histopatolojik görünüm	75
Şekil 4.13. DYT & KYD uygulaması yapıldıktan 15 gün sonraki histopatolojik görünüm	76
Şekil 4.14. DYT & KYD'ye ilave diyet lazer uygulaması yapıldıktan 15 gün sonraki histopatolojik görünüm	76
Şekil 4.15. DYT & KYD uygulaması yapıldıktan 30 gün sonraki histopatolojik görünüm	77
Şekil 4.16. DYT & KYD'ye ilave diyet lazer uygulaması yapıldıktan 30 gün sonraki histopatolojik görünüm	77
Şekil 4.17. Lazer ve kontrol gruplarının MPKO ortalamaları.	78
Şekil 4.18. Lazer ve kontrol gruplarının DPKO ortalamaları.....	80
Şekil 4.19. Gruplara ait alt çenelerin 7. günde sakrifikasyon işleminden hemen sonra alınmış radyografi görüntüleri.....	81
Şekil 4.20. Gruplara ait alt çenelerin 15. günde sakrifikasyon işleminden hemen sonra alınmış radyografi görüntüleri.....	81
Şekil 4.21. Gruplara ait alt çenelerin 30. günde sakrifikasyon işleminden hemen sonra alınmış radyografi görüntüleri.....	81
Şekil 4.22. Lazer ve kontrol gruplarının CRP seviyeleri.....	82

TABLolar DİZİNİ**Sayfa No**

Tablo 2.1. 1999 yılında Amerikan Periodontoloji Akademisi tarafından yapılan periodontal hastalıkların sınıflaması.	6
Tablo 2.2. Etkilediği alana göre kronik periodontitis.....	9
Tablo 2.3. Hastalığın şiddetine göre kronik periodontitis.....	9
Tablo 2.4. Periodontal hastalıkların patofizyolojisinde sitokin ve kemokinler.....	17
Tablo 3.1. SDS-PAJE İçin Jellerin Hazırlanması.....	50
Tablo 4.1. IL-1 β değerlendirilmesi.....	61
Tablo 4.2. IL-6 değerlendirilmesi.....	62
Tablo 4.3. TNF- α değerlendirilmesi.....	64
Tablo 4.4. MMP-8 değerlendirilmesi.....	65
Tablo 4.5. MPO değerlendirilmesi.....	67
Tablo 4.6. RANK değerlendirilmesi.....	68
Tablo 4.7. RANKL değerlendirilmesi.....	70
Tablo 4.8. OPG değerlendirilmesi.....	71
Tablo 4.9. EHİ değerlendirilmesi.....	73
Tablo 4.10. MPKO değerlendirilmesi.....	78
Tablo 4.11. DPKO değerlendirilmesi.....	79
Tablo 4.12. CRP değerlendirilmesi.....	82

1. GİRİŞ

Periodontal hastalık, mikrobiyal dental plaktaki patojenik bakterilerin ve ürünlerinin direkt etkisiyle veya konak dokuda oluşturduğu immün yanıt ile indirekt etkiyle gelişen, periodontal doku ve alveoler kemik kaybıyla sonuçlanan kronik enflamatuvar bir hastalıktır (1). Periodontal hastalıklarda konak dokuda meydana gelen yıkımları her ne kadar patojenik bakteriler başlatsa da genetik özellikler ve konağın bakterilere karşı vermiş olduğu immün yanıt asıl doku yıkımından sorumlu tutulmaktadır (2-4). Doku tamir ve yıkımında rol oynayan birçok sitokin, enflamatuvar medyatör ve proteolitik enzim ile inhibitörlerinin yanında reaktif oksijen türleriyle (ROT) antioksidan savunma sistemi arasındaki denge de periodontal hastalığın ilerleyişine yön vermektedir (5).

Konak ve bakteriler arasındaki etkileşimde interlökin-1 (IL-1), IL-6, IL-11, IL-17, prostaglandin E₂ (PGE₂), tümör nekroz faktör- α (TNF- α) gibi proenflamatuvar sitokinler, kemokinler ve matriks metalloproteinazlar (MMP) gibi konak enzimlerinin salınımı artarak periodontal dokuların yıkımına sebep olmaktadır (6, 7). Periodontitiste bu proenflamatuvar sitokinler dolaşıma katılarak sistemik olarak da etki göstermektedirler (8). C reaktif protein (CRP), IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α gibi enflamasyonla ilişkili medyatörler periodontitiste olduğu gibi kardiyovasküler hastalıklar, tromboembolik olaylar ve aterosklerozis ile de ilişkili bulunmuştur (9). CRP gibi enflamasyon medyatörleri ve serum antikor düzeyleri periodontitisli hastalarda yükselmiş olup periodontal tedavi sonrasında seviyelerinde anlamlı düşüşler gözlenmektedir (8, 10, 11).

Kemik yıkımını engelleyen osteoprotegerinin (OPG) keşfiyle, reseptör aktivatör nükleer kappa B (RANK) ile RANK ligandının (RANKL), fizyolojik ve patolojik kemik rezorpsiyonunda önemli rollerinin olduğu gösterildikten sonra bu konuyla ilgili detaylı çalışmalar yapılmış ve periodontitisle ilişkisi araştırılmıştır. Periodontitiste, RANKL'in öncül osteoklastlardaki RANK'a bağlanmasıyla kemik rezorpsiyonu başladığı, bunun aksine OPG ekspresyonu fazla olduğunda OPG,

RANKL'a bağlanarak RANK-RANKL bağlantısını engellediği görülmüştür. Periodontal hastalıklarda birçok sitokin ve hormon RANKL/OPG oranını artırarak kemik rezorpsiyonuna neden olmaktadır (12, 13).

Kollajenaz ailesinin bir üyesi olan MMP-8, periodontal dokulardaki tip 1 ve 3 kollajen yıkımının çoğundan sorumlu olduğu için periodontitisteki esas kollajenaz olarak kabul edilmektedir (14, 15). MMP-8'in periodontal doku yıkımında anahtar rol oynaması bu enzimi araştırmaların odağı haline getirmiştir. Klinik ve deneysel çalışmalarda periodontitisli gruplardaki dişeti oluğu sıvısı (DOS) ve serum MMP-8 düzeyi artmışken, tedavi sonrasında seviyelerinin azalması periodontitisle ilişkisini ortaya koymaktadır (16-18).

Enflamatuvar olaylarda ROT'un neden olduğu oksidatif stres oluşmakta ve bunun sonucunda da doku hasarı gelişmektedir. Normalde bu oksidatif hasarı engelleyen birçok mekanizma bulunmaktadır ve bir denge söz konusudur. Bu denge ROT lehine bozulduğunda polimorfonükleer lökositler (PMNL), lenfositler, monositler, osteoklastlar ve fibroblastlar gibi periodontal dokularda bulunan birçok hücreden ROT üretilmeye başlanmakta ve sonuçta da doku hasarı oluşmaktadır. ROT kaynaklarından bir tanesi olan myeloperoksidaz (MPO), enflamasyonlu dokuda aktive olan PMNL'lerce yüksek miktarda üretilmekte olup dokudaki nötrofil infiltrasyonunun, oksidatif yükün ve doku hasarının belirlenmesinde önemli bir belirteçtir (19, 20).

Periodontal hastalıkların tedavisinin temelini, hastalığın primer etyolojik sebebi olan mikrobiyal dental plağın (MDP) ve ürünlerinin diş ve kök yüzeylerinden mekanik olarak uzaklaştırılması oluşturmaktadır. Cerrahi olmayan periodontal tedavi yöntemleri olarak el aletleri veya ultrasonik aletlerle DYT & KYD günümüze kadar başarıyla uygulanmıştır. Bunun yanında sadece el aletleriyle gerçekleştirilen mekanik tedavinin, bazı anatomik yapılardan dolayı ilgili bölgeye ulaşım güçlüğü yaşanması, aletlerin kullanımı için klinik tecrübe gerektirmesi ve bakterilerin dokulara invazyonu gibi sorunlar neticesinde DYT & KYD'nin başarısı kısıtlanabilmektedir. Tedavinin başarısını artırmaya yönelik birçok ajan ve sistem geliştirilerek mekanik tedaviyle beraber uygulanmıştır. Bu yeni sistemlerden biri olan lazerler diş hekimliğinde oldukça geniş kullanım alanı bulmuştur. Periodontal

hastalıkların tedavisinde kullanılan lazerlerden biri olan diyot lazerler, daha çok bakteriyel yükün azaltılmasına yönelik ve cep dekontaminasyonunda kullanılmaktadırlar (21-23). Diyot lazer gibi birçok lazerin periodontal tedavide kullanımının giderek artmasına rağmen bu konuyla ilgili sonuçlar çelişkilidir ve daha çok araştırma yapılması gerekmektedir.

Bu çalışmada deneysel periodontitis oluşturulan deney hayvanı modelinde el aletleri ile yapılan cerrahisiz periodontal tedaviye ek olarak diyot lazer kullanımının,

1. Dişetinde bulunan IL-1 β , IL-6, MMP-8, MPO, RANK/RANKL/OPG ve TNF- α üzerine etkisinin
2. Serum CRP seviyeleri üzerine etkisinin
3. Alveoler kemik kaybı üzerine etkisinin
4. Enflamasyon üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Periodontal Hastalıklar

Periodontal hastalık; patojenik bakteriler ve konak dokunun immün cevabı arasındaki kompleks etkileşim sonucunda, tedavi edilmediğinde periodontitise dönüşerek dişlerin etrafındaki destek dokuların kaybına ve dişlerin kaybedilmesine sebep olabilen enflamatuvar bir hastalıktır (1). Toplumun her kesimini değişik oranlarda etkileyebilen periodontal hastalıklar, insanlarda görülen en yaygın enfeksiyöz hastalıklardandır (24). Hastalığın oluşmasında ana etyolojik faktör olan mikrobiyal dental plaktaki gram negatif anaerobik veya fakültatif bakteriler ile konak savunma sisteminin bu mikroorganizma ve ürünlerine cevabı sonucunda doku hasarı ve kaybı oluşmaktadır. Periodontal hastalıklarda meydana gelen yıkım miktarı lokal faktörlere, subgingival floraya, konağın bağışıklık sisteminin etkene karşı oluşturduğu cevaba ve konağa ait genetik özelliklere bağlı olarak değişebilmektedir (2, 3, 25). Mikroorganizmalar ve konak cevabı arasındaki bu ilişkiler hastalığın başlamasını, ilerlemesini ve şiddetini belirleyen en önemli faktörlerdir (26).

Periodontal hastalığın iki önemli tipini gingivitis ve periodontitis oluşturmaktadır (27). Gingivitis, dental plak birikimi takiben gelişen, dişetlerinde eritem, ödem, dişeti yüzeyindeki pürüzlülüğün kaybolması ve kanamayla karakterize, lokalize veya generalize olabilen iltihabi bir dişeti hastalığıdır (27). Gingivitisin en erken ve en önemli bulgusu sondlamada kanamadır. Sondlamada kanama hastalığın şiddetine göre değişmekle birlikte genetik, metabolik, çevresel ve diğer faktörler de gingivitis etkilemektedir (28). Gingivitisteki enflamatuvar bulgular ve doku yıkımı geri dönüşebilecek kadar azdır. Gingivitis tedavi edilmediğinde ise diş destek dokularının kaybına sebep olarak periodontitise ilerleyebilmektedir. Her gingivitis olgusu periodontitise dönüşmezken, periodontitisten önce mutlaka gingivitis gelişmektedir. Periodontitiste mikrobiyal dental plaktaki bakterilere ve ürünlerine karşı verilen kronik enflamatuvar cevap

sonucunda ataşman ve alveoler kemiğin geri dönüşümsüz olarak kaybı gerçekleşir (28).

İnsan vücudunun yaklaşık 10^{14} hücreden oluştuğu, bunun da sadece %10'unun memeli hücresi olduğu hesaplanmıştır. Geri kalan konaktaki yerleşik florayı oluşturan mikroorganizmalardır. Yerleşik mikrofloranın kompozisyonu ağız, deri ve bağırsak gibi ekolojik çevre için karakteristiktir (29). Dil ve tonsiller gibi ortamlarda spiroketler ve *Provetella intermedia* (*P. intermedia.*) gibi siyah pigmente bakterilerin kolonize olduğu, bunların da periodontal patojenler için ortam sağladığı bilinmektedir (30). Yetişkin bir insanın ağız boşluğu; dişler, keratinize ve keratinize olmayan yumuşak dokulardan oluşan yaklaşık 215 cm^2 'lik bir alandan oluşur (31). Mikroorganizmalar ağız boşluğunun daimi üyeleridir ve yaklaşık olarak >700 filotip üyesi olduğu saptanmıştır; bunların da yaklaşık 500 türü subgingival plakta kolonize olabilmektedir (32). Ağız boşluğundaki mikroorganizma kolonizasyonu hayat boyu devam eder ve ağız mikroflorası bakteri-bakteri ve bakteri-konak arasındaki etkileşimle sağlanan bir denge içerisinde (33). Bu dengenin bozulması sonucu ekolojik değişim olur. Ağız-diş hastalıklarının çoğunluğu bu ekolojik değişimden kaynaklanır (34).

Ağızda bulunan bakterilerin çoğu biyofilm olarak adlandırılan yüzeye yapışık mikroorganizma topluluklarıdır. Dişler, sürdükten veya temizlendikten hemen sonra tükürük pelikülü ile kaplanır ve ilk bakteriler kolonize olur. Plak oluşumunun erken safhalarında gram pozitif koklar baskın türken, ilerleyen zamanlarda plak topluluğu kokobasiller, çomak ve filamentöz bakterilere doğru kayar (35). Erken kolonize olan ilk bakteriler diş yapılarına fiziko-kimyasal etkileşimle tutunurlar. Bu bakteriler çoğalarak ve ekstraselüler polisakkarit üreterek lokal çevresel şartların değişmesine yol açarlar ve bu da başka türlerin kolonize olması için uygun bir ortam oluşturur. Aerop ve kapnofillerin baskın olduğu mikroçevre değişerek fakültatif anaeroplara baskın olduğu bir ortam haline alır. Geç kolonize olan bakteriler daha önceki bakterilere adhezin-reseptör mekanizmaları ile bağlanırlar ve birbirleriyle otoaggregasyon oluştururken diğer bakteriler ile koaggregasyon başlar. Koaggregasyon olayı genetik olarak farklı bakterilerin özel moleküller aracılığıyla birbirlerine yapışmasıdır (36). Farklı tür bakteriler arasındaki etkileşimler sonucunda

mısır koçanı veya test tüp fırçası gibi oluşumlar meydana gelir (37). *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) erken ve geç kolonize olan bakteriler arasında köprü vazifesi görür. Mikroçevre giderek daha çok gram negatif türlerin, hareketli bakterilerin ve spiroketlerin yer almaya başladığı bir biyofilme dönüşür. Biyofilm olgunlaştıkça *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Treponema* türleri, *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *P. intermedia* ve *Eubacterium* türleri gibi geç kolonize olan bakterilerin sayısı giderek artar (38). Sonuçta plak biyofilmi bu safhada periodontitisin başlıca etkeni haline gelir.

2.2. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

Periodontal hastalığın etyolojisine ve patogenezine yönelik yapılan araştırmaların sonuçlarına göre günümüze kadar birçok sınıflama yapılmıştır. Periodontal hastalıkların ve durumların sınıflandırılmasına yönelik en son değerlendirme uluslararası düzeyde yapılan Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin 1999'da düzenlediği çalıştayda gerçekleştirilmiştir (Tablo 2.1) (39).

Tablo 2.1. 1999 yılında Amerikan Periodontoloji Akademisi tarafından yapılan periodontal hastalıkların sınıflaması.

1. Gingival Hastalıklar

- a) Plağa bağlı gingival hastalıklar
- b) Plağa bağlı olmayan gingival lezyonlar

2. Kronik Periodontitis

- a) Lokalize Kronik Periodontitis
- b) Generalize Kronik Periodontitis

3. Agresif Periodontitis

- a) Lokalize Agresif Periodontitis
- b) Generalize Agresif Periodontitis

4. Sistemik Hastalıkların bir bulgusu olarak Periodontitisler

Tablo 2.1 (Devam). 1999 yılında Amerikan Periodontoloji Akademisi tarafından yapılan periodontal hastalıkların sınıflaması.

5. Nekrotizan Periodontal Hastalıklar

- a) Nekrotizan ülseratif gingivitis
- b) Nekrotizan ülseratif periodontitis

6. Periodonsiyumun Apseleri

- a) Gingival apseler
- b) Periodontal apseler
- c) Perikoronar apseler

7. Endodontik Lezyonlarla İlişkili Periodontitisler

- a) Endodontik-periodontal lezyon
- b) Periodontal-endodontik lezyon
- c) Kombine lezyon

8. Gelişimsel veya Kazanılmış Deformiteler ve Durumlar

- a) Dental plağa bağlı gingival hastalıkları veya periodontitisi modifiye veya predispoze eden diş ile ilişkili lokalize faktörler
- b) Dişler etrafındaki mukogingival deformiteler ve durumlar
- c) Dişsiz kretlerdeki mukogingival deformiteler ve durumlar
- d) Okluzal travma

2.3. Kronik Periodontitis

Periodontitis gingivitisin ilerlemesi sonucunda periodontal ataşman ve alveoler kemik kaybı ile sonuçlanan kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Daha önceleri yetişkin periodontitisi veya kronik yetişkin periodontitisi olarak bilinen kronik periodontitis ise periodontitisler içerisinde en sık rastlanılan formudur. Kronik periodontitis genellikle yavaş ilerleyen bir hastalık olmasına rağmen diyabet, sigara, stres gibi sistemik veya çevresel faktörlerin etkisiyle plağa verilen konak doku cevabının değişmesiyle daha yıkıcı ve hızlı ilerleyen bir hale dönüşebilmektedir. Kronik periodontitis genellikle yetişkin toplumda görülmekle beraber kronik plak ve diş taşı birikimine bağlı olarak çocuklarda ve gençlerde de görülebilmektedir. Kronik periodontitisli hastalardaki karakteristik klinik bulgular; supragingival ve subgingival plak birikimini takiben diş taşı oluşumu, dişeti enflamasyonu, cep oluşumu, alveoler kemik ve ataşman kaybı oluşmasıdır. Dişetlerinde renk değişikliği, ödem, stiplinglerin kaybolması ve spontan veya sondlamada kanama en yaygın klinik bulgulardandır. Marjinal dişeti dokularının fibrotik hal aldığı bazı olgularda enflamatuvar değişikliklerin maskelendiği de görülebilir. Hem yatay hem de dikey yönde kemik kayıpları bulunabilir. Kemik kaybının çok olduğu durumlarda dişlere sıklıkla mobilite de eşlik etmektedir. Kronik periodontitiste ağrı, periodontal apse oluşumu, gıda sıkışması, kök çürükleri ve açığa çıkan kök yüzeylerinde sıcağa, soğuğa veya her ikisine karşı hassasiyet gelişmesi dışında genellikle nadir görülen bir semptomdur. Ağrı lokalize, künt ve çeneye yayılan bir şekilde görülür. Hastalığın genellikle ağrısız geçmesi hastaların tedavi ihtiyacı duymalarına büyük bir engel teşkil etmektedir (27).

Kronik periodontitis subgingival plak birikiminin etkisiyle oluşan alana özgü bir hastalıktır. Dişin bir yüzeyinde periodontal cep oluşumu, ataşman ve kemik kaybı izlenirken diğer yüzeylerinde kayıp görülmeyebilir. Kronik periodontitis etkilediği bölgenin büyüklüğüne bağlı olarak lokalize veya generalize olmak üzere iki grupta tanımlanır (Tablo 2.2) (27).

Tablo 2.2. Etkilediği alana göre kronik periodontitis

Lokalize kronik periodontitis	• ataşman ve kemik kaybı gösteren alanlar <30 %
Generalize kronik periodontitis	• ataşman ve kemik kaybı gösteren alanlar >30 %

Kronik periodontitis hastalığın şiddetini gösteren ataşman kaybı miktarına göre üç alt gruba ayrılır (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Hastalığın şiddetine göre kronik periodontitis

Kronik Periodontitis:	Hafif: 1-2 mm'lik klinik ataşman kaybı
	Orta: 3-4 mm'lik klinik ataşman kaybı
	şiddetli: 5 mm ve fazla klinik ataşman kaybı

2.4. Hastalığın İlerlemesi

Kronik periodontitisin ilerleme hızı hastadan hastaya hatta aynı hastanın farklı bölgelerinde değişkenlik gösterebilmektedir. Bazı bölgeler uzun zaman pasif

kalırken başka bir bölgede daha hızlı bir yıkım görülebilir. Hastalığın ilerleyişi genellikle yavaş olmakla birlikte sistemik ve çevresel faktörlerle hızlı bir seyir kazanabilir. Periodontal hastalığın aktif olarak tespit edildiği yerler daha çok interproksimal alanlar, furkasyon alanları, sarkık restorasyon marjinleri, malpoze dişler ve gıda sıkışmasının olduğu alanlar gibi plak kontrolünün zor sağlandığı alanlardır (27).

Kronik periodontitis her yaşta görülebilmekle birlikte daha çok 30'lu yaşlar veya sonrasında klinik olarak dikkatleri çekmektedir. Her iki cinsiyeti de eşit etkileyen kronik periodontitisin yaş ile beraber periodontal dokuların kronik plak birikimine maruz kalma süresinin artmasıyla prevalansı da artmaktadır (27).

2.5. Kronik Periodontitisin Etiyolojisi

Kronik periodontitisin temel etyolojik etkeni mikrobiyal dental plaktır. Dental plaktaki mikroorganizmaların çoğalmasını ve doku yıkımı etkileyen birçok lokal, sistemik ve çevresel faktör bulunmaktadır. Diş taşları gibi plak retansiyonuna sebep olan faktörler plağın büyümesi ve olgunlaşması için uygun ekolojik çevreyi sağlarlar ve kronik periodontitisin gelişmesi ve ilerlemesi için önemli rol üstlenirler. Restorasyon marjinleri, dişetin altına uzanan çürük lezyonları, kemik ve ataşman kaybıyla açığa çıkmış furkasyon bölgeleri, dişin anatomik yapısı, çapraşık ve malpoze dişler gibi lokal faktörler de plağın birikmesini kolaylaştırıcı etkilerinden dolayı kronik periodontitis için risk faktörleri olarak kabul edilmektedir. Lokal faktörlerin yanı sıra diabetes mellitus, osteoporoz, AIDS ve Down Sendromu gibi sistemik hastalık veya sendromların varlığında konak doku cevabındaki değişimin sonucunda periodontal dokuların yıkımı daha fazla olabilmektedir (40-45). Sigara kullanan kronik periodontitisli hastalarda, kullanmayanlara oranla ataşman ve kemik kaybı, furkasyon tutulumu ve daha derin ceplerin bulunduğu, sondlamada kanamanın ise daha az olduğu görülür. Nekrotizan ülseratif hastalıklarla ilişkilendirilen emosyonel stresin immün sistem üzerindeki etkilerinden dolayı kronik periodontitisin şiddetini ve dağılımını etkilediği de düşünülmektedir (46). Subgingival biyofilmdeki mikroorganizmaların sebep olduğu periodontal hastalıklarda bazı gen-gen veya gen-çevre etkileşimlerinin hastalığı modifiye edebileceği hipotezi ileri sürülmüştür (47).

2.6. Periodontal Hastalıkların Patogenezi ve Doku Yıkımı

Page ve Schroeder periodontal hastalığın patogenezi periodontal dokulardaki enflamatuvar olaylarda gelişen histopatolojik özelliklere göre birbirini izleyen 4 safhada incelemişlerdir (48). Başlangıç, erken ve yerleşik dişeti lezyonu gingivitisin gelişimi esnasındaki safhaları gösterirken ilerlemiş lezyon gingivitisin periodontitise dönüşümünün göstergesidir.

1. Başlangıç Lezyonu: Dental plak birikimini takiben 2-4 gün içerisinde gelişir. Dişetinde vazodilatasyon ve kan akımında artış gözlenir. Gingival enflamasyona bağlı olarak gingival sulkusa ve birleşim epiteline PMNL göçü izlenir. Bağ dokusunda perivasküler kollajen kaybı, iltihabi hücre infiltrasyonu ve serum proteinlerinde artış gözlenir. Bu safhada infiltrat bağ doku hacminin yaklaşık % 5'ini kaplar ve nötrofil, makrofaj ve lenfositleri içerir. Başlangıç lezyonunun hastalığın bir safhası olmaktan çok klinik olarak sağlıklı dişetinde az miktarda dental plağa karşı doku ve immün sistemin fizyolojik bir cevabı olduğu düşünülmektedir (27).

2. Erken Lezyon: Dental plak oluşumunun 4-7. günü içerisinde gelişir. Bu safhada birleşim epitelinin altındaki kapiller dilatasyon ve proliferasyonun yanında eritem ve sondlamada kanama gözlenir. Birleşim epiteli ve dişeti oluğu epiteli proliferasyon olarak plağa karşı doğal bir bariyer görevi görür. Bağ dokusunda yoğun lenfosit infiltrasyonu vardır. Enflamatuvar hücre infiltratı bağ dokusu hacminin yaklaşık % 15'ini oluşturur. Lenfositlerin %75'i T hücreleri olup nötrofil, makrofaj, plazma ve mast hücrelerine de rastlanmaktadır. Lezyon bölgesindeki fibroblastlar dejenere olurken bölgeye daha fazla lökosit infiltrasyonu gerçekleşir. Kollajenaz enzimleri ve nötrofillerden salınan diğer enzimlerin etkisiyle kollajenin yaklaşık % 70'i yıkıma uğrar (27, 49).

3. Yerleşmiş Lezyon: Dental plak oluşumunu takiben 14. günden sonra gelişir. Erken lezyonda görülen bağ dokusu kaybı bu safhada da giderek artarak devam eder. Birleşim epiteli lateral ve apikal yönde proliferasyon olur. Dişetinde orta veya şiddetli enflamasyon bulguları gözlenir. Bu safhada bağ dokusundaki enflamatuvar infiltratın içeriği değişir ve yoğun plazma hücre infiltrasyonu gözlenir. Ülsere birleşim epitelinin diş ile olan bağlantısı kaybolur ve dişeti cebi oluşur.

Bağlantı epitelinin büyük bir kısmı da cep epiteline dönüşür. Bakteriyel ürünler cep epiteline penetre olarak hücresel yanıtı başlatırlar. İki tip yerleşmiş lezyon vardır; ilki uzun zaman ilerlemeden kalabilir ve T hücreleri baskındır, ikinci lezyonda ise B hücreleri ile plazma hücreleri baskın olup lezyon daha aktiftir ve yıkıcı lezyona dönüşebilir (27, 50, 51).

4. İlerlemiş Lezyon: Periodontal yıkım fazı olarak değerlendirilen bu safha yerleşmiş lezyonun alveoler kemiğe ilerlemesiyle karakterizedir. Cep oluşumu ve cep epitelinde ülserasyonlar mevcuttur. Bağ dokusu ataşmanının yıkımı ve birleşim epitelinin apikale hareketi vardır. Cep epitelinin altındaki bağ dokusunda nötrofil, plazma hücresi, lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu gözlenir. İlerlemiş lezyonda B hücreleri ve plazma hücreleri yaygın olarak bulunur ve yardımcı T (Th) 2 hücreleri de lezyonda önemli role sahiptir. İnfiltrat cep epitelinden alveoler kemiğe kadar uzanır. Bu aşama periodontitis olarak adlandırılmaktadır (27, 52).

Gingivitisten periodontitise geçişteki mekanizmalar tam olarak açıklığa kavuşturulmasa da her gingivitisin periodontitise dönüşmediği fakat periodontitisten önce mutlaka gingivitis geliştiği de bilinmektedir (27).

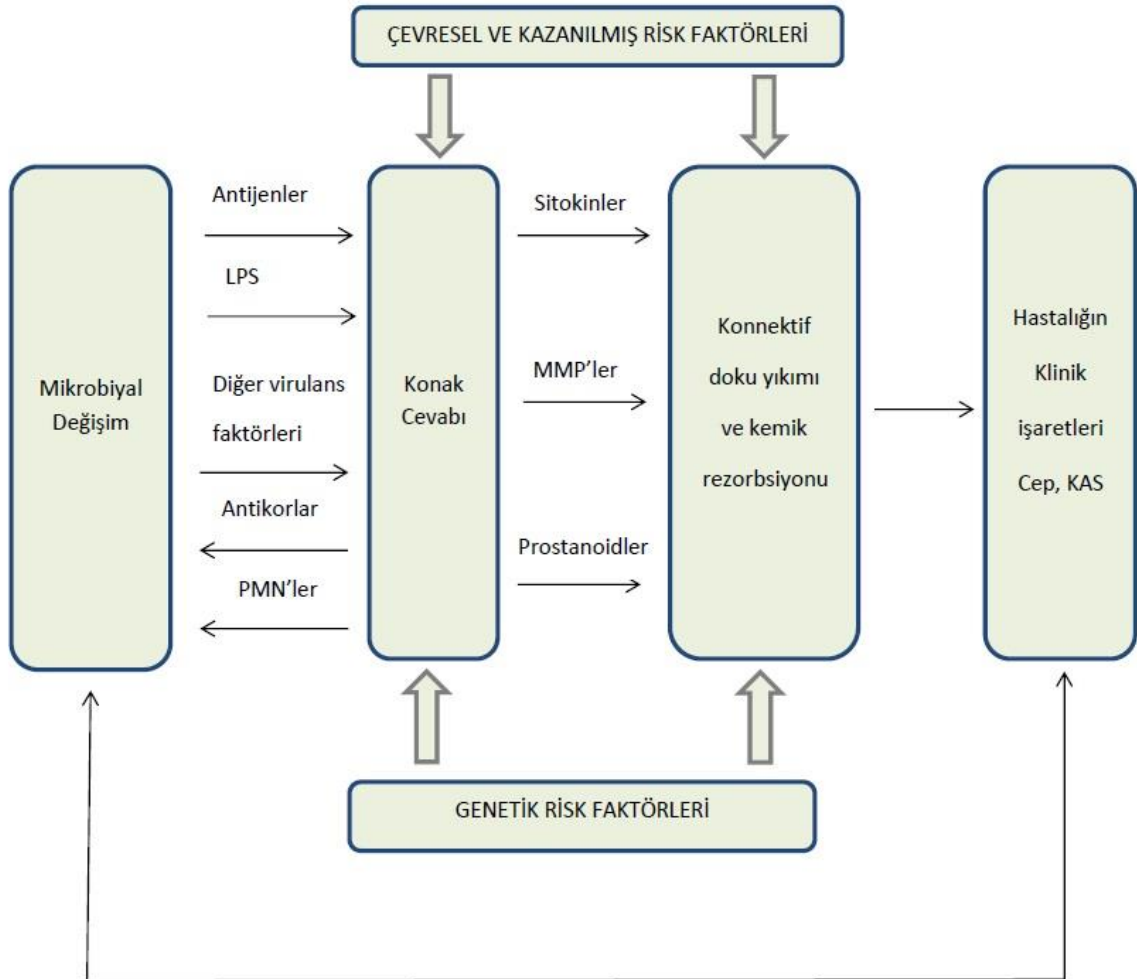
Dental plaktaki bakteriler periodontal dokularda kolonize olduktan sonra endotoksinler, kemotaktik peptitler, hyaluranidaz, kollajenaz, ve proteazlar gibi salgıladıkları ürünler ile enflamatuvar bir cevap başlatırlar. *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* ve diğer periodontopatojenler sahip oldukları lipopolisakkarit, sitoplazmik membranlar, dış membran proteinleri, peptidoglikanlar, kapsüller ve fimbrialar gibi virülans faktörleri aracılığı ile de lokal doku enflamasyonu ile sonuçlanacak konak immün cevabını başlatabilirler (27).

İlk hücresel konak savunmasını nötrofiller yaparak enflamasyonun akut fazında önemli bir rol oynarlar. Nötrofiller çözünür antikorlar ve kompleman sistemi elemanlarıyla beraber doğal ve non-spesifik immün cevabın oluşmasında etkilidirler (53). Nötrofillerin spesifik fonksiyonları olan konak substratına yapışma, kemoatraktanlar yardımıyla göç etme, tanıma ve mikroorganizmanın fagositozundaki bozulmalar hastalığın klinik belirtilerini ortaya çıkartır (54). Nötrofiller bakteriyel faktörler ve antijen komplekslerini içeren çeşitli kemotaktik faktörler tarafından

kontrol edilmektedirler (55). Plak olgunlaşmış daha patojenik bir hal aldıkça enflamatuvar cevap da akut kroniğe dönüşür ve monositler, makrofajlar, plazma hücreleri, T ve B lenfositleri immün cevapta daha etkin rol almaya başlarlar (56). Makrofajların bazıları fagositler gibi görev yaparken bazıları da antijen sunan hücreler olarak T hücresi aktivasyonunda görev alırlar. Hücrel immünitenin aktivasyonu IL-1 ve TNF- α gibi pro-enflamatuvar sitokinlerin salınımıyla beraber enflamatuvar sürecin uzamasında ve konak doku yıkımında da rol oynarlar (55). Bakteri enzim ve toksinleri epitelyal cep tabanındaki ülser alanlardan bağ dokularına geçerek sistemik dolaşıma katıldığında konak dokuda hümmoral ve hücrel reaksiyonların başlamasına neden olurlar (57). B hücreleri hümmoral immün cevapta birincil hücrelerdir ve antijen-spesifik antikorları üretirler. Bu antikorlar kompleman sistemi aktivasyonunu sağlarken fagositlerin ortama gelişini tetikleyen immün kompleksleri oluştururlar. Bu kompleksler aynı zamanda toksinlerin etkisizleştirilmesinde ve bakterilerin opsonizasyonunda da etkilidirler (58, 59). Hümmoral cevabın düzenlenmesinden sorumlu bir diğere hücre olan T hücreleri, yardımcı T hücreleri ile B hücrelerinin plazma hücrelerine farklılaşmalarına yardımcı olurken baskılayıcı T hücreleri ile de immün hücrelerin antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitelerini uyarırlar (56). Th1 hücreleri intrasellüler patojenlere karşı hücrel immünitede rol alırken Th2 hücreleri mast hücrelerinin aktivasyonu ve IgE üreterek hümmoral immüniteye aracılık etmektedir (52). Th1 hücreleri stabil lezyonlarda baskın iken periodontitise ilerlemiş lezyonlarda Th2 hücreleri ile yoğun olarak antikor salgılayan plazma hücreleri ve enflamatuvar sitokin ve MMP üreten B hücresi infiltrasyonu gözlenir (60, 61).

Periodontal hastalıkların patogenezi hala tam olarak anlaşılmasına rağmen, dental plak içerisindeki bakteri ve ürünleri ile konak doku cevabı arasındaki ilişki hastalığa yön vermektedir (62). Konak ve bakteriler arasındaki çift yönlü etkileşimde IL-1, IL-6, PGE2, TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinler, kemokinler ile matriks metalloproteinazlar (MMP) gibi konak enzimlerinin salınımı artarak periodontal dokuların yıkımına sebep olabilmektedirler (6, 7). İmmün ve enflamatuvar süreç başladıktan sonra sitokinler, prostaglandinler, MMP'ler ve diğere konak enzimleri gibi moleküller lökositler, fibroblastlar ve diğere doku hücreleri tarafından üretilmeye başlarlar (63). Ekstrasellüler matriksin yıkılması MMP'ler ile

IL-1 α , IL-1 β , IL-10, transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) ve lipopolisakkaritlerle düzenlenen MMP inhibitörleri arasındaki dengeye bağlıdır (64). Periodontal hastalıkta doku yıkımına bakteri ile konak arasındaki ilişkinin yanı sıra genetik ve çevresel faktörlerin de etkili olduğu bilinmektedir (Şekil 2.1) (5).



Şekil 2.1. Periodontitisin patogenezinin şematik gösterimi.

2.7. Sitokinler

Sitokinler, mikroorganizma ve diğer antijenlere karşı gelişen enflamatuvar cevabın başlamasında, ilerlemesinde ve durdurulmasında önemli rol oynayan hücrel düzenleyici polipeptid molekülleridir (65). Sitokinler makrofajlar, T hücreleri, fibroblastlar, epitel hücreleri, monositler, nötrofiller, ve keratinositler gibi pek çok hücreden salınabilmektedirler. Sitokinler hücre bölünmesi ve farklılaşmasının kontrolü, hematopoetik hücrelerin gelişimi, antijenlerin eliminasyonu, immün sisteminin regülasyonu, yaraların iyileşmesi, kemik formasyonu ve hücrel metabolizmanın değiştirilmesi gibi birçok biyolojik olayda görev almaktadır (66). Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanırlar ve hedeflenen hücrelerdeki spesifik membran reseptörlerine bağlanarak etkilerini gösterirler (Tablo 2.4). Sitokin reseptörlerinin ligandları için sahip olduğu yüksek afinite özelliğinden dolayı sitokinler düşük konsantrasyonlarda bile etkili olabilmektedirler. Sitokinler etkilerini sistemik veya lokal olarak gösterirken diğer sitokinlerin sentez ve etkilerini de değiştirebilirler. Bazı sitokinler çeşitli hücreler tarafından farklı dokularda salgılanır fakat aynı biyolojik etkiyi gösterir. Bazıları belli hücreler tarafından kana veya çeşitli hücrel sıvılara salgılanıp vücudun diğer bölgelerindeki hücrel reseptörlerine bağlanırlar ve klasik hormon gibi davranırlar. Bazı sitokinler ise daha lokalize olmuş etkiler gösterirler. Bunlar otokrin (bir hücre tarafından salgılanan sitokinin aynı hücre üzerine etkisi) ve parakrin (belli bir hücre tarafından salgılanan sitokinin yakındaki komşu hücreye etkisi) etkilerdir (67).

Sitokinlere başlangıçta sadece lenfositlerden üretildiği sanıldığından lenfokin adı verilmiştir. Daha sonra monositlerin de sitokinleri ürettikleri ortaya çıkınca monokin ismi kullanılmaya başlanmıştır. 1970'li yıllarda sitokinlerin daha çok lökositlerce üretildiği ve bu üretilen sitokinlerin diğer lökositlere etki ettiği düşünülmüş ve interlökinler olarak adlandırılmıştır. Günümüzde bu mediatörlerin sadece lenfoid hücreler tarafından salgılanmadığı görülmüş ve hücrel kaynağa göre isimlendirilmekten vazgeçilmiştir (68).

Hücrel ve moleküler düzeydeki araştırma tekniklerinin gelişimi ve yaygınlaşması ile beraber birçok yeni sitokin bulunmuş ve bilinmeyen özellikleri açıklığa kavuşturulmuştur. Günümüze kadar 29 interlökin grubu tanımlanmıştır.

Sitokinlerin tanımlanması ve karakterize edilmesi çeşitli isimlendirme ve sınıflandırma sistemine göre yapılmıştır. Bu sınıflandırma sitokinler arasındaki fonksiyonel benzerliklere etki mekanizmalarına dayanmaktadır. Sitokinler başlıca şu ana gruplara ayrılmaktadır:

1) Büyüme faktörleri (Epidermal büyüme faktörü, EGF; Platelet orijinli büyüme faktörü, PDGF; insülin benzeri büyüme faktörü-1, IGF-1; İnsülin benzeri büyüme faktörü-2, IGF-2; Sinir büyüme faktörü, NGF; Asidik fibroblast büyüme faktörü, aFGF; Bazik fibroblast büyüme faktörü, bFGF; Neurolökin; Amfiregulin; Hepatosit büyüme faktörü, HGF vb.)

2) Lenfokinler (interlökin-1, IL-1 α ; IL-1 β ; IL-2; IL-3; IL-4; IL-5; IL-6; IL-7; IL-8; IL-9; IL-10; IL-11; IL-12; IL-13; IL-14; IL-15; IL-17; IL-18; IL-21; IL-22; IL-23; IL-26; IL-27; IL-32; IL-33)

3) Koloni stimüle eden faktörler (Granülosit/makrofaj koloni stimüle eden faktör, Granülosit-CSF; Multi-CSF; Eritropoietin, Lösemi inhibitör faktör)

4) Transforme edici büyüme faktörleri (TGF- α ; TGF- β)

5) Tümör nekroz faktörleri (TNF- α ; TNF- β)

6) Interferonlar (IFN- α ; IFN- β ; IFN- γ) (69)

Sitokinlerin biyokimyasal etkileri göz önüne alınarak yapılan sınıflandırmada ise;

- a) Enfeksiyöz uyarılara yanıt olarak büyük oranda mononükleer fagositlerce salınan proenflamatuvar sitokinler,
- b) Monosit ve lenfositlerin aktivasyonunda, büyüme ve farklılaşmasında görev alanlar immünregülatör sitokinler,
- c) Olgunlaşmamış lökositlerin büyüme ve gelişimini düzenleyenler lökosit gelişimsel sitokinler olarak gruplandırılabilirler (67).

Sitokinler doğal ve kazanılmış immünitinin mediyatörleri, lenfositlerin aktivatörleri, büyüme ve farklılaşmalarının düzenleyicileri, enflamatuvar hücrelerin aktivatörleri ve olgunlaşmamış lökositlerin büyüme ve farklılaşmalarının uyarıcıları olarak görev yapmaktadırlar. Bu özellikleri ile sitokinler tüm organizmada olduğu

gibi periodontal dokunun da sağlığının korunmasında önemli rol oynamaktadırlar. Periodontal hastalıkların ana etyolojik sebebi bakteriler olsa da bağ dokusu ve kemik yıkımında ve hastalığın seyrinde konak cevabı çok büyük rol oynamaktadır. İnterlökin-1, IL-6, IL-11, IL-17 TNF- α gibi doku yıkımını stimüle eden proenflamatuvar sitokinler ile IL-1 reseptör antagonisti, IL-4, IL-10, IL-12, IL-13, IL-18, interferon- β , interferon- γ , TGF- β gibi doku yıkımını inhibe eden antienflamatuvar sitokinler arasındaki dengeye bağlı olarak periodontal dokulardaki yıkım süreci kontrol edilmektedir (70). Plak mikroorganizmalarına karşı verilen sitokin cevabı ile ya koruyucu bir immün denge ile periodontal hastalık ilerlemez ya da doku yıkımı daha da artarak hastalığın ilerlemesine neden olur (71). Bu nedenle periodontal hastalık patogenezinde sitokinlerin kritik rol oynadığı düşünölmektedir.

Tablo 2.4. Periodontal hastalıkların patofizyolojisinde sitokin ve kemokinler (72).

Sitokin/ Kemokin	Hücresel Kaynak	Reseptör	Fonksiyon	Sağlıktaki Seviyeleri	Enflamas- yondaki Seviyeleri
IL-1 β	Fagositler (Nötrofiller, Makrofajlar) Epitelyal hücreler Fibroblastlar	IL-1R1 IL-1R2	Enflamatuvar hücre migrasyonunu uyarmak, Kemik rezorpsiyonunu uyarmak, Anti-enflamatuvar özellikler, B hücresi uyarıcı faktör, IL-10 üretimini uyarmak, Humoral immün cevap	Yok/ Az	Kronik enflamas- yonda artmış seviye
IL-6	Fagositler (Nötrofiller, Makrofajlar) T ve B hücreleri Epitelyal hücreler	IL-6R	Osteoklastogenezis Kemik rezorpsiyonunu arttırmak Pro-enflamatuvar özellikler	Yok/Az	Kronik enflamas- yonda artmış seviye
TNF- α	Fagositler (Nötrofiller, Makrofajlar) Epitelyal hücreler	TNFR1 TNFR2	Adezyon moleküllerinin up-regölasyonu Kemokin üretimi up- regölasyonu IL-1 β ve IL-6	Yok/Az	Kronik enflamas- yonda artmış seviye

Tablo 2.4 (Devam). Periodontal hastalıkların patofizyolojisinde sitokin ve kemokinler (72).

Fibroblastlar		düzenlenmesi			
		Hücre migrasyonu uyarmak			
		MMP ve RANKL üretimini artırmak			
MMPler	Fagositler (Nötrofiller/ PMNL/Monositler/	TIMP	Ekstrasellüler matriksin yapılandırılması	Yok/Az	Artmış seviye
Makrofajlar					
Epitelyal hücreler					
Fibroblastlar					
Endotelyal hücreler					
OPG	Osteoblastlar T hücreleri	RANKL	RANK-RANKL bağlanmasını önleyerek kemik rezorpsiyonunun inhibisyonu	Az	Azalmış/ Artmış seviye
RANKL	Osteoblastlar Osteositler Lökositler	RANK	Osteoklastların aktivasyonu ve farklılaşması	Az	Artmış seviye

2.7.1. İnterlökin-1 β

İnterlökin-1 ailesi endotel hücreleri ve lökositlerden integrinlerin salınmasıyla enflamatuvar cevabı başlatan ve düzenleyen 11 sitokin grubundan oluşur ve birçok biyolojik olayda görev alırlar (73). İnterlökin-1 enflamatuvar cevabın temel belirteçidir ve aktive olmuş makrofajlar, mast hücreleri, endotel hücreleri, B hücreleri, fibroblastlar, epitel hücreleri, astrositler, keratinositler, dendritik hücreler, Langerhans hücreleri ve osteoblastlar tarafından üretilirler (71, 74). Bu sitokinler lenfositler ve fagositler gibi bağışıklık sistemi hücrelerinin enfeksiyon bölgesine transmigrasyonu için endotel hücrelerinden adezyon faktörlerinin salınımını artırır. Ayrıca hiperaljezi, vazodilatasyon, hipotansiyon ve hipotalamusta

termoregülatör merkeze etkileriyle ateşin yükselmesinde de endojen pirojen olarak rol oynadığı bilinmektedir (75). İnterlökin-1, IL-6, TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinler dolaşımdaki lökositlerin toplanmasını kolaylaştıran adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu, sonrasında kemik iliğinden lökosit ve trombositlerin dolaşıma geçmesini sağlarlar ve plazma proteinlerinin hepatik veya endotelial salınımını değiştirerek kardiovasküler hastalık riskini arttırmırlar (76) .

Aggregatibacter actinomycetemcomitans ve Porphyromonas gingivalis gibi periodontopatojenler lipopolisakarit gibi bakteriyel toksinleri ile konak hücrelerinden IL-1 salgılanmasını uyarırken IL-1'in kendisi ve TNF- α da makrofajlar tarafından IL-1 üretimini aktive edebilmektedir (77). Kompleman sisteminin bir ürünü olan C5a, koloni stimüle edici faktör, TNF- α , TGF- β ve IL-1'in kendisi gibi konağa bağlı faktörler de IL-1 salgılanmasını uyarabilirler. Kortikosteroidler ve antienflamatuvar ajanlar ise, makrofajlardan IL-1 salımını inhibe edici role sahiptir (71, 78).

İnterlökin-1, hücre metabolizması, immün ve enflamatuvar reaksiyonlar üzerinde lokal ve sistemik etkilere sahiptir. IL-1 ailesi IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-18'i içeren dört ana üye ve tip I ve tip II'den oluşan iki reseptörü içerir (79). IL-1 sitokin ailesi üyelerinden IL-1 α ve IL-1 β agonist aktiviteye sahiptirler. IL-1 Reseptör antagonisti ise, IL-1 α ve IL-1 β molekülleriyle fizyolojik olarak antagonist aktiviteye sahiptir ve konak hücre uyarımı gerekmeksizin IL-1 reseptörüne bağlanarak dokuda IL-1'e ait fizyolojik ve patofizyolojik dengeyi düzenler (73, 78).

IL-1 α ve IL-1 β , aminoasit düzeyinde sadece %27 oranında benzerlik göstermelerine rağmen, ortak biyolojik fonksiyonlara sahiptirler. IL-1 β , doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinin alarminlere maruz kaldıktan sonra transkripsiyon faktörü NF- κ B'nin indüklemesiyle IL-1 α 'nın aksine inaktif öncü bir protein olarak sentezlenir (75, 80). Aktif hale dönüşmesi, kaspaz-1 denilen spesifik IL-1 dönüştürücü enziminin salınımı ile olur (81). IL-1 β , IL-1 α 'dan 10-50 kat daha yüksek düzeyde sentezlenir ve proenflamatuvar özellikleri daha güçlüdür (82). IL-1 α , büyük oranda hücre membranı ile ilişkili olarak bulunurken, IL-1 β 'nın hücreden salındığı gösterilmiştir (83, 84). Hücre yüzeyinde IL-1 α , IL-1 β ve IL-1Ra'yı tanıyan iki reseptör protein tanımlanmıştır (74, 85). Tip I reseptörler sinyal iletimi ve hücre

aktivasyonundan sorumluyken, tip II reseptörler membrana bağlı, çözünebilir ve işlev görmeyen reseptörler olarak tanımlanmıştır (74, 85). IL-1 reseptör aktivitesinin, hem nötralize edici reseptör olarak davranan tip II reseptörler, hem de IL-1Ra tarafından azaltılarak bloke edildiği belirtilmiştir (86).

IL-1 α ve IL-1 β , monosit ve fibroblastlardan büyük miktarlarda PGE₂ üretimine sebep olarak, kemik rezorpsiyonuna ve aynı zamanda MMP salınmasını indükleyerek, bağ dokusu yıkımına neden olurlar (87, 88). IL-1 β , prostaglandin, kollejenaz ve proteaz üretimini arttırarak periodontal dokuların kaybında etkili olabilmektedir (89). Ayrıca prostaglandinden bağımsız olarak, osteoklastlar üzerine direkt etki ile kemik rezorpsiyonuna neden olurlar (87). IL-1 kemik demineralizasyonunu arttırır ve TNF- α ile benzer etki gösterir (71). İn vitro olarak yapılan hücre kültürü çalışmalarında IL-1'in etkisiyle fibroblastların kollajenaz ürettiği gösterilmiştir (71). IL-1 diğer proenflamatuvar sitokinleri (IL-6, TNF- α gibi) veya PGE₂, nitrik oksit gibi enflamatuvar ürünleri üretmeleri konusunda osteoblastları uyarabilir (90). Sürekli IL-1 varlığı kemik yapımını engeller. Osteoblast kökenli hücrelerin farklılaşmalarınının erken aşamalarındaki hücrelerin proliferasyonunu stimüle eden IL-1, tam farklılaşma gerçekleştiğinde fonksiyonlarını baskılar (87).

Eltas ve ark. (91) 20 generalize kronik periodontitisli hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada DYT & KYD ve Nd:YAG lazer ile tedavinin IL-1 β , MMP-8 ve klinik parametreler üzerine etkilerini incelemişlerdir. Tedavi sonunda DOS IL-1 β , MMP-8 seviyelerinin azaldığı rapor edilmiştir. Wilton ve ark. (92) kronik periodontitisli hastalardan oluşan başka bir çalışmada ise IL-1 β seviyesi ile periodontal dokuların yıkımı arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. DOS IL-1 β düzeylerinin ELİSA ile incelenmiş ve periodontal yıkımda seviyelerinin arttığı gösterilmiştir.

2.7.2. İnterlökin-6

İnterlökin-6 (IL-6), hücrel ve humoral immün cevapları düzenleyen, enflamasyon ve doku hasarında önemli rol oynayan multifonksiyonel proenflamatuvar bir sitokindir (93). Interferon- β 2, hepatosit stimüle edici faktör, B

hücresi stimüle edici/farklılaşma faktörü olarak da isimlendirilen IL-6'nın etkileri kendi reseptörü olan IL-6R ile ilişkisine göre şekillenmektedir (94). Ana kaynağı monositler, fibroblastlar ve vasküler entotelyal hücreler olan IL-6; IL-1, TNF- α , bakteriyel ürünler ve diğer uyaranlara cevap olarak aktive T ve B hücreleri, makrofajlar, keratinositler, osteoblastlar, dentritik hücreler, astrositler gibi birçok hücre tarafından da sentezlenmektedir (95).

IL-6'nın en önemli fonksiyonlarından birisi B lenfositlerin olgunlaşmalarını uyarıp immünoglobulin salgılayan plazma hücrelerine dönüşmelerini sağlamaktır (96). IL-6, T hücrelerini aktive eder, hepatositler tarafından akut faz proteinlerinin sentezini ve salgılanmasını uyarır ve kompleman basamaklarını aktive eder (97). IL-6 kemik yenilenmesinin lokal olarak düzenlenmesinde de önemli bir role sahiptir (98). IL-6'nın patolojik olaylarda öncü hücrelerden osteoklast oluşumunu uyararak, osteoklastik kemik rezorpsiyonunu aktive ederek veya IL-1 β sekresyonuyla kemik rezorpsiyonunda otokrin/parakrin etki gösterdiği görülmüştür (99). IL-1, TNF- α , IL-3 ve IL-4 ile beraber sinerjistik etki göstererek hematoprogenitör hücre farklılaşmasında görev alır. IL-2 üretimini, T hücrelerinden IL-2 reseptör salımının tetiklenmesinde ve sitotoksik T hücrelerinin farklılaşmasını uyarırlar (100). IL-6 aynı zamanda akut enflamatuvar cevabın sonlanmasında, TNF üretimini inhibe etmek gibi düzenleyici etkilere de sahiptir (101). Enflamasyon artışının IL-6 ile ilişkili olduğu bilinmektedir.

Giannopoulou ve ark. (97) 20 agresif periodontitis, 20 kronik periodontitis, 20 gingivitis, 20 sağlıklı hastadan oluşan toplam 320 örnekte yaptıkları çalışmalarında, enflame dişeti dokuları sağlıklı dokular ile karşılaştırıldığında enflamasyonlu örneklerde IL-6 seviyesinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Haba ve ark. (102) periodontitisli ve iskemik atak geçiren hastalardaki CRP ve IL-6 seviyesi ile hastalık ilişkisini araştırmışlar ve serum ve DOS IL-6 seviyelerinin her iki hastalıkta da yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Kardeşler ve ark. (103) diyabeti olan ve olmayan kronik periodontitisli hastalarda DOS IL-6, doku tipi plazminojen aktivatörü, plazminojen aktivatör inhibitör-2 ve albümin seviyelerini incelemişlerdir. Faz-I periodontal tedavi başlangıcında, 1. ve 3. ayında DOS örnekleri alınmış ve IL-6 seviyesinin tedavi sonrasında anlamlı derecede düştüğü gösterilmiştir.

2.7.3. Tümör Nekroz Faktör-Alfa

Tümör nekroz faktör (TNF), periodontal hastalıkta meydana gelen enflamatuvar yanıtta anahtar rol oynayan diğer bir polipeptit sitokindir. TNF moleküler ağırlığı yaklaşık 17 kDa/monomer olan trimerik bir proteindir. Bu sitokin, kaşektin olarak bilinen TNF- α ve lenfotoksin-alfa olarak bilinen TNF- β olmak üzere biyokimyasal olarak farklılık gösteren iki formda sentezlenmektedir. TNF- α ve TNF- β 'ya bağlanarak biyolojik aktivilerini nötralize eden iki yüzey reseptörü tanımlanmıştır; TNF-R1 (önceki adı:TNFRp55) ve TNF-R2 (önceki adı:TNFRp75) (104). Her iki reseptörün ekstraselüler ve stoplazmik yapısı ile fonksiyonları birbirinden farklıdır bu yüzden de farklı sinyal yollarını aktive ederler. TNF etkisini hedef hücrelerin membranlarındaki yüksek afiniteli reseptörler üzerinden gerçekleştirir. TNF'nin enflamatuvar aktivitesi TNF-R1 tarafından gerçekleştirilirken TNF-R2, TNF-R1'e göre daha yüksek afinite gösterdiğinden TNF stimülasyonuna hassasiyeti artırır ve TNFR1 tarafından verilen yanıtı geliştirir (105, 106).

TNF, lenfoid hücreler, mast hücreleri, epitelyal hücreler, endotel hücreler, yağ dokusu, osteoblastlar, fibroblastlar ve nöronlar gibi birçok hücre grubu tarafından üretilirler. Uyarılmış makrofajlar ve monositler TNF- α 'nın ana kaynağını oluştururlarken TNF- β ise sitotoksik T hücreleri tarafından salınmaktadır (107). TNF- α çeşitli hücreler üzerinde bir takım iltihabi ve immün düzenleyici etkiler göstermektedir (108). Doku yaralanmalarına, IL-1, interferon- γ gibi iltihabi mediyatörlere, lipopolisakkaritler ve diğer bakteriyel ürünlere yanıt olarak üretilen TNF- α , nötrofilleri aktive ederek endotel hücrelerine tutunmalarına ve degranülasyonuna, fagositoz aktivasyonuna, interselüler adezyon molekülü (ICAM-1) ekspresyonunda artışa ve gerekli olan kemokinlerin üretimini uyarmaktadır (78). TNF- α , makrofajlardan IL-1, IL-6, IL-8 ve PGE₂, fibroblastlardan interferon- β ve bazı hücrelerden de granulosit makrofaj koloni stimüle edici faktör üretimini artırır (104). TNF- α aynı zamanda enflamatuvar cevapta görev alan prostaglandin, kollajenaz ve MMP gibi enzimlerin üretiminde artışa sebep olarak kemik rezorpsiyonunda da rol oynamaktadır (104). TNF- α , monositleri aktif hale getirir, platelet aktive edici faktörün ve IL-1 β 'nin üretimini stimüle eder (109).

Osteoprotegrin ve NF- κ B'nin reseptör aktivator faktörü gibi osteoklast farklılaşmasında görevli faktörlerin üretimini etkileyerek ve IL-1'le sinerjik etki göstererek kemik rezorpsiyonunu artırır (108, 110).

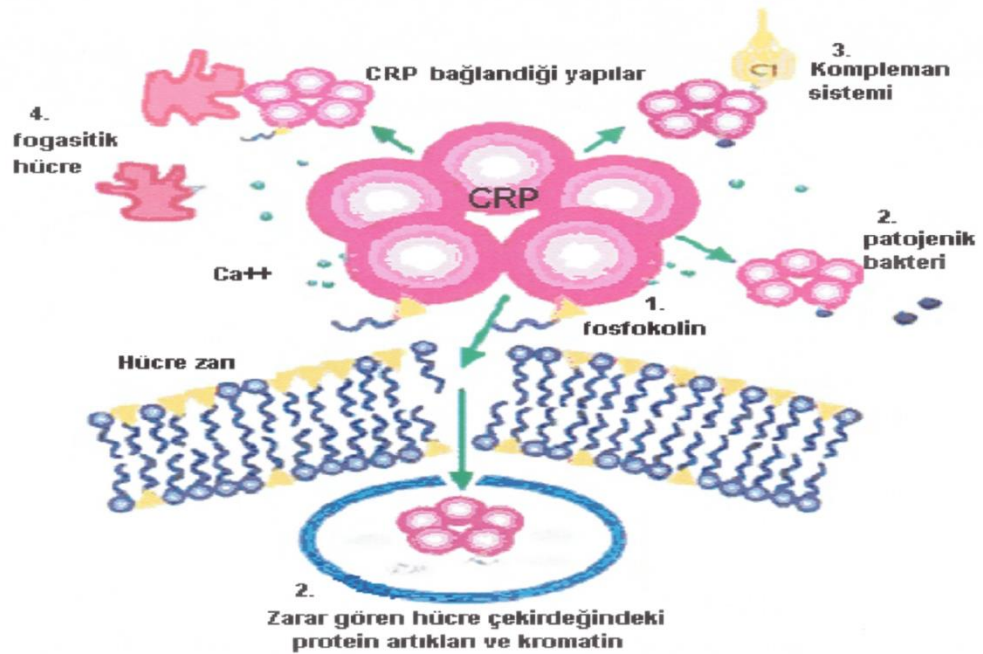
TNF- α inflamasyonun major mediatörü olup aşırı sekresyonunda, kronik inflamatuvar ve otoimmün hastalıkları uyarabilmektedir. TNF- α , pro-inflamatuvar aktivitesini periodontitiste, ataşman ve kemik kaybı şeklinde göstermektedir. TNF- α , IL-1 β 'ya benzer aktivite göstermesinin yanında enflame gingival dokularda daha yüksek IL-1 β seviyeleri görülmüştür (111). Gingival enflamasyon ve periodontitiste DOS'ta IL-1 β gibi TNF- α seviyeleri de artmıştır (104, 112). Noh ve ark. (113) kronik periodontitis hastalarından aldıkları dişeti örneklerinden ELİSA yöntemi ile IL-6, IL-8 ve TNF- α seviyelerini incelemişlerdir. Periodontal yıkımın izlendiği bölgelerde sağlıklı bölgelere göre daha fazla IL-6 saptandığından aktif periodontitisin bir belirleyicisi olarak kabul edilebileceğini ileri sürmüşlerdir. Gaspersic ve ark. (114) ratlarda oluşturdukları deneysel modelde, dişlere ligatür bağlayıp deri altından TNF- α verilmesiyle periodontitis oluşumunun hızlandığı gözlemlenmişlerdir. Diğer bir çalışmada Rossomando ve ark. (115) 162 sahadan aldıkları DOS örneklerini ELİSA yöntemi ile incelemişler ve TNF'nin hastalığın klinik olarak gözlenebilir bölgelerinde periodontal hastalık için uygun bir gösterge olabileceğini vurgulamışlardır.

2.8. C Reaktif Protein

İlk kez 1930 yılında *streptococcus pneumoniae*'nin hücre duvarındaki C-polisakkarit bileşiğine bağlanabilme özelliği keşfedilmiş ve CRP olarak adlandırılmıştır. İlk başlarda kanseri de içeren birçok hastalığa sahip kişide CRP'nin yükselmiş seviyeleri patojenik bir salgı gibi düşünülmüşse de daha sonra karaciğerden salgılanan akut faz reaktanlarından olduğu anlaşılmıştır. CRP geni 1. kromozom üzerinde lokalizedir, yapısı ve Ca⁺² bağlanma özelliği nedeniyle pentraksin olarak adlandırılan protein grubuna dahil edilmiştir. CRP 118.000 molekül ağırlığında, benzer beş protein alt ünitesinin non-kovalent bağlanmasıyla oluşan bir beta-globulindir (116).

CRP, bakteri hücre duvarı ve normal doku hücrelerinin membran yapısında bulunan fosfokoline bağlanma özelliğiyle immünolojik sürecin başlamasında etkisini göstermektedir (117). CRP'nin bağlanmasıyla klasik yoldan kompleman sistemi aktive olur, fagositoz hızlanır, enflamatuvar medyatörler salgılanır ve hücre lizisi meydana gelir (118). CRP doğal immün yanıtta da önemli roller oynamaktadır;

- Zarar görmüş dokular ve bakteri yapısındaki fosfokolini tanır ve bağlanır (1)
- Hücre duvarı zarar görmüş hücreleri belirler ve bu hücrelerin çekirdek artıklarını tespit eder (1)
- Opsonin gibi hareket ederek fagositoz için bakterileri işaretler (2)
- Fagositik aktiviteyi tetikleyen kompleman sisteminin ilk komponenti olan C1'e bağlanır (3)
- Enflamatuvar sitokinlerin oluşumunu uyaran polimorfonükleer lökositlere ve monositlere bağlanır (4) (Şekil 2.2) (118).



Şekil 2.2. CRP'nin enflamatuvar süreçteki görevleri.

Bakteriyel, viral ya da fungal enfeksiyonlar, travma, yanık, doku hasarı, hipoksi, malignansi ve enflamatuvar hastalıklar gibi çeşitli akut ve kronik enflamatuvar durumlarda hem lokal hem de sistemik düzeyde 'akut faz cevabı'

denilen reaksiyonlar başlar. Lokal olarak ısı artışı, ödem, kızarıklık ve ağrı ile seyreden klinik belirtilerin yanında ateş, granülositoz ve plazma proteinlerinin artışı gibi sistemik değişiklikler de meydana gelmektedir. Bu akut ve kronik enflamatuvar olaylarda IL-1, IL-6, TNF- α , PGE ve interferonlar gibi birçok medyatör salgılanmaktadır. Bu medyatörler de karaciğer tarafından fibrinojen ve CRP üretimine neden olurlar. CRP seviyesi, akut enflamasyon başlangıcından 2 saat içinde hızla artarak 24-48 saatte tepe noktasına ulaşır ve yıkıma uğrayan dokunun genişliğine paralel olarak dokunun yapısının ve fonksiyonlarının tamiri sonrasında normal seviyelerine döner (116, 119). CRP'nin akut faz proteini olarak kabul edilmesi, enfeksiyon ve enflamasyon sırasında plazma düzeyinin belirgin bir şekilde yükselmesindedir (119). Bundan dolayı da sistemik enflamasyonun belirteci olarak kabul edilir (120).

Serumda akut faz proteinlerinin düzeylerindeki değişiklikler, bakteriyel enfeksiyonlar, malign hastalıklar, yanık, ameliyat sonrası dönem, romatoid artrit ve kardiyovasküler hastalıklarda enflamasyon durumunu göstermek adına önemlidir ancak daha önce de belirtildiği gibi birçok faktörün CRP seviyesinde artışa sebep olmasında dolayı tek başına spesifik bir hastalığın tanısı için yeterli değildir (117).

CRP'nin uzun plazma yarı ömrü (12-18 saat) sayesinde kolay ölçülebilmesinin yanında enflamatuvar süreçte, periodontitisin tanısında, izlenmesinde ve tedavisinde de önemli bilgiler sunmaktadır (121). Zhou ve ark. (10) stabil koroner kalp hastalığına sahip kronik periodontitisli hastalarda yaptıkları bir çalışmada cerrahisiz periodontal tedavinin serum TNF- α , IL-6 ve CRP seviyeleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Sadece oral hijyen eğitimi verilen gruba göre cerrahisiz periodontal tedavi uygulanan grupta 3 ay sonra kanama indeksi, plak indeksi ve klinik ataşman seviyelerindeki azalmayla beraber serum CRP seviyeleri de belirgin düzeyde azalmış bulunmuştur. Kumar ve ark. (11) tarafından kronik generalize periodontitisli hastalar üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise periodontal tedavinin CRP'ye etkisi araştırılmıştır. Faz 1 tedavi öncesinde, 14.günde ve 45.günler DOS alınmış ve 45.günde CRP'nin 6.34mg/l seviyesinden 0.58mg/l seviyesine düştüğü gösterilerek yükselmiş CRP seviyesinin periodontal hastalığın göstergesi olduğu savunulmuştur. Periodontitiste CRP'nin seviyesinin arttığı

gösteren birçok araştırmanın yanında sağlıklı bireylerin serumunda da çok az miktarda CRP bulunduğu gösteren çalışmalar mevcuttur (122). Tüm bu araştırmaların ışığında serum CRP seviyesi enflamasyonun gelişimini ve yapılan tedavinin etkinliğini belirlemek açısından anlamlı ve önemlidir.

2.9. Matriks Metalloproteinazlar

Ekstraselüler matriks (ESM), hücrelerin bir arada tutulmasını sağlayan, pek çok protein, hormon, proteoglikan ve büyüme faktörleri içeren, hücrelerin özel fonksiyonları gerçekleştirebilmesi için hücre içi sinyalleme yolları ile etkileşmelerini sağlayan, birçok biyolojik olayda etkisi olan, hücreler arası boşlukları dolduran karmaşık ve dinamik bir yapıdır.

ESM ile hücreler arasında meydana gelen etkileşimler organizmanın normal gelişimi ve fonksiyonu için kritik rol oynamaktadır. Hücre-ESM etkileşimleri ESM bileşenlerinin hidrolizinden sorumlu bir takım proteolitik enzim sistemi tarafından düzenlenmektedir (123). Bu enzimler ESM yapısının bütünlüğünü düzenleyerek matriks moleküllerinin oluşturduğu sinyallerin kontrolünde, hücrelerin migrasyonunda, proliferasyonunda, farklılaşmasında ve apoptozisinde temel rol oynarlar (123). ESM yıkımı değişik fizyolojik ve patolojik durumlarda görülebilmekle beraber başlıca dört grup enzim tarafından gerçekleştirilmektedir;

- ✚ Sistein proteazlar
- ✚ Aspartik proteazlar
- ✚ Serin proteazlar
- ✚ Metalloproteazlar

Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), yaklaşık 28 enzimden oluşan, hücre-matriks kompozisyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynayan ekstraselüler proteazlardır. MMP'ler Zn^{++} ve Ca^{++} bağımlı nötral endopeptidaz ailesi olarak bilinirler. MMP'ler, makrofajlar, nötrofiller, endotel hücreleri, fibroblastlar, vasküler düz kas hücreleri, T lenfositleri, trombositler, kondrositler, keratinositler, epitel hücreleri, mezenşimal hücreler ve osteoblastlar gibi oldukça çeşitli hücre tipi tarafından salınırlar (124).

Organizmada fizyolojik olayların sürdürülmesinde MMP aktivitesi ile onların spesifik endojen doku inhibitörleri (TIMP'ler) arasında sürekli bir denge söz konusudur (125). Bu dengenin MMP aktivitesi yönüne kayması matriksin yıkılmasına ve sonuçta patofizyolojik olayların oluşmasına neden olmaktadır. MMP'ler, kanser ve ateroskleroz başta olmak üzere romatoid artrit, osteoporoz, multiple skleroz, amfizem, nefrit ve karaciğer fibrozunda olduğu kadar periodontitisin patofizyolojisinde de önemli rol oynarlar (124). MMP'ler ve TIMP'ler sağlıklı dokularda düşük düzeyde sentezlenirler ve enflamasyon, immün cevap gelişimi, yara iyileşmesi, kemik remodelasyonu ve apoptozis gibi birçok biyolojik süreçte görev alırlar (124).

MMP'ler yapılarına veya molekül ağırlıklarına göre sınıflandırılırlar da en yaygın kullanılan sınıflama substrat özgüllüğüne göre yapılan sınıflamadır. Yeni üyelerin katılımı ile sürekli genişleyen bu enzim ailesinin bugüne kadar klonlanmış ve sekanslanmış 66'dan fazla üyesi bulunmaktadır (126). Bu üyeler substrat özgüllüklerine göre kollajenazlar, jelatinazlar, stromelisinler, membran tipi MMP'ler ve diğerleri olmak üzere beş alt grupta toplanmışlardır (127).

2.9.1. MMP-8

Geniş bir enzim ailesi olan MMP'lerin günümüzde 23'ünün insanlarda sentez edildiği gösterilmiştir (127). Substrat özgüllüklerine göre sınıflandırıldığında kollajenaz ailesinin bir üyesi olan MMP-8 (nötrofil tip kollajenaz), periodontitisin de dahil olduğu birçok enflamatuvar hastalıkta doku yıkımında önemli roller oynamaktadır (128).

Dişeti, periodontal ligament ve alveoler kemik farklı tiplerde kollajen içermektedir. Tip 1 ve 3 kollajen periodontal dokulardaki kollajenin yaklaşık %60'ını oluşturmaktadır. MMP ailesinin sadece yedi tanesi tip 1 kollajeni yıkabilmektedir. Bunlar; MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9, MMP-12, MMP-13 ve MMP-14'tür (129). MMP-8, tip 1, 2 ve 3 kollajenlerin hepsini hidrolize etse de tip 1 kollajeni diğerlerine göre daha hızlı yıkıma uğratar ve periodontisteki yıkımda majör kollajenazdır. MMP-8'nin infiltratif nötrofillerin dışında sitokinle uyarılmış mezenşimal hücreler, gingival fibroblastlar, endotelial hücreler, odontoblastlar ve

plazma hücreleri gibi çeşitli hücreler tarafından da sentezlendiği bilinmektedir (14, 15, 130, 131).

MMP'lerin periodontal dokuların yıkımında anahtar medyatör olması nedeniyle periodontal dokulardaki ve DOS'taki varlığı günümüze kadar birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. MMP-8'in latent formunun gingivitis ile ilişkili olduğu bulunurken periodontitisteki doku yıkımından aktif MMP-8'in sorumlu olduğu gösterilmiştir (15, 16, 132). Kraft-Neumärker ve ark. (133) generalize kronik periodontitisli hastalardan aldıkları DOS örneklerini ELİSA yöntemiyle incelemişler ve aktif MMP-8 seviyeleri ile periodontal cep derinliği arasında anlamlı bir ilişki belirlemişlerdir. Mäntylä ve ark. (134) kronik periodontitisin tedavisi ve sonuçlarının izlenmesi için bir hasta başı testi olan MMP-8 testini geliştirip denemişlerdir. Sağlıklı, gingivitisli ve periodontitisli hastalardan oluşan üç gruptan toplam 207 bölgeden örnek alınmış ve DOS MMP-8 seviyeleri immünoflorometrik analizle incelenmiştir. Şiddetli periodontitisli bölgelerdeki DOS MMP-8 seviyeleri $> 1\text{mg/l}$ çıkarak pozitif test sonucu ile sağlıklı ve gingivitisli alanlardan ayırt edilmiş ve MMP-8 seviyesindeki artış ya da değişimin periodontal tedavinin idamesinde faydalı olabileceği belirtilmiştir. Konopka ve ark. (135) 30 generalize kronik periodontitis 21 sağlıklı bireyin dahil edildiği başka bir çalışmada ise DYT & KYD'nin DOS IL-1 β , IL-8 ve MMP-8 seviyelerine etkisini araştırmışlardır. DOS örnekleri tedavi öncesinde, 1. haftada ve 4 haftada alınarak ELİSA ile değerlendirilmiştir. Tedavi öncesinde kronik periodontitis grubunda IL-1 β , IL-8 ve MMP-8 seviyeleri yüksek bulunurken periodontal tedavi ile bu medyatörlerin anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir. Eltas ve ark. (91) tarafından Nd:YAG lazerin DYT & KYD ile kombine kullanıldığı diğer bir çalışmada ise periodontal tedavinin IL-1 β ve MMP-8 üzerine etkileri incelenmiştir. Tedavi öncesi, tedavi sonrası 3 ve 9. aylarda olmak üzere generalize kronik periodontitisli 20 hastadan alınan DOS örneklerinde IL-1 β ve MMP-8 seviyeleri ELİSA ile ölçülmüştür. DYT & KYD ile beraber uygulanan Nd:YAG tedavisinin uzun dönemde klinik ataşman seviyesi, sondlama cep derinliği ve gingival indeks gibi klinik parametrelerdeki olumlu etkisinin yanında DOS IL-1 β ve MMP-8 seviyelerinde de önemli ölçüde düşüş göstermiştir.

Tüm bu araştırmaların sonucunda periodontal dokulardaki patofizyolojik kollajen yıkımında aktif rol oynayan MMP-8'in DOS ve serum konsantrasyonlarının periodontal doku yıkımının önemli bir göstergesi olduğu açıktır.

2.10. OPG/RANK/RANKL

2.10.1. Osteoprotegerin

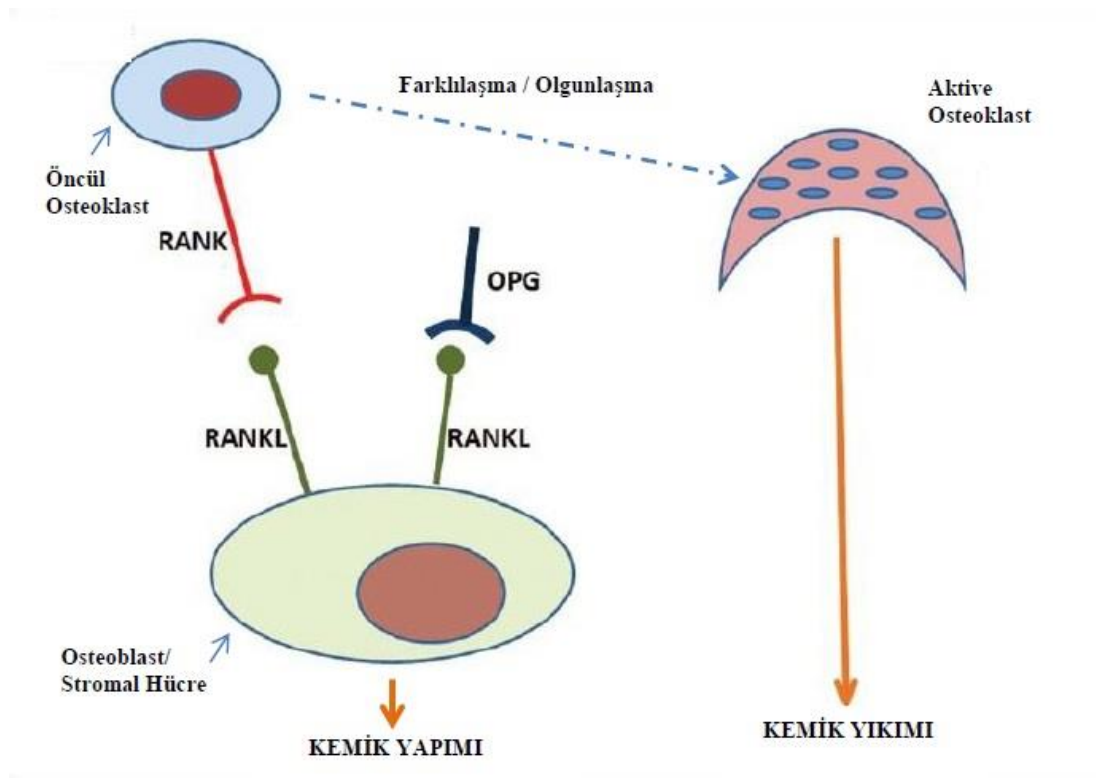
1997'de birbirinden bağımsız iki araştırma grubu tarafından kemik yıkımını engelleyen ve osteoprotegerin (OPG) adı verilen yeni bir protein bulunmuştur (136). Daha sonra konuyla ilgili çalışmalar hız kazanmış ve reseptör aktivatör nükleer kappa B (RANK) ile RANK ligandı (RANKL) adında fizyolojik ve patolojik kemik rezorpsiyonunu kontrol eden iki farklı protein daha keşfedilmiştir (137).

OPG, TNF reseptörleri süper ailesinin bir üyesi olup ailenin diğer reseptörlerinden farklı olarak transmembran ve sitoplazmik kısımları yoktur. Başlangıçta 401 aminoasit olarak sentezlenen OPG, 21 aminoasitlik propeptid kısmı ayrıldıktan sonra olgun proteine dönüşmektedir. Hücre dışına 60 kDa'luk monomerik ve 120 kDa'luk disülfid bağı içeren homodimerik çözünür bir glikoprotein olarak salgılanır. OPG yedi yapısal bölgeden oluşmaktadır. 1. ve 4. bölgeleri osteoklastogenezisi inhibe edici aktiviteye sahipken 7. bölgesinde heparin bağlayan kısım bulunur ve 5. ile 6. bölgeleri apoptotik sinyal iletimi ile ilişkilidir (12, 138-140).

OPG, ana kaynağı osteoblastlar olmakla beraber kardiyovasküler sistem hücreleri, böbrek, karaciğer, beyin, akciğer, kemik iliği gibi birçok doku, hematopoetik ve immün hücre tarafından da sentezlenmektedir (139, 141). TGF- α , TGF- β , 17 β -östradiol, IL-1 β ve IL-18 gibi sitokinler OPG sentezini artırırken, glukokortikoidler, siklosporin A, paratiroid hormon, PGE₂ ve fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) de OPG sentezini inhibe etmektedir. Ayrıca OPG sentezi osteoblastlardaki kemik oluşumunu düzenleyen Wnt/ β -katenin sinyali ile de düzenlenmektedir (12, 13, 142, 143).

Fizyolojik koşullarda osteoblastlar tarafından üretilen RANKL'm öncül osteoklast yüzeyinde bulunan RANK'a bağlanması ile TNFR ilişkili faktör 6 (TRAF-

6) uyarılarak NF- κ B aktivasyonu gerçekleşmektedir. NF- κ B aktivasyonu ile artan c-Fos sentezi NFATc1 ile etkileşerek osteoklastojenik genlerin transkripsiyonunu tetiklemekte ve böylece kemik rezorpsiyonu başlamış olmaktadır. OPG tuzak reseptörü gibi davranarak osteoblastların yüzeyindeki RANKL'a bağlanmak suretiyle osteoklast farklılaşmasını ve aktivasyonunu inhibe etmektedir (Şekil 2.3). OPG ve RANKL arasındaki denge osteoklastların fonksiyonunu belirlemektedir. Bu denge çok sayıda sitokin ve hormon tarafından yönlendirilmektedir (12, 137, 139, 141, 144). RANKL/OPG oranındaki değişimler artmış kemik rezorpsiyonuna bağlı kemik hastalıklarının patogenezinde önemli rol oynamaktadır (145).



Şekil 2.3. Öncül osteoklastın olgun osteoklasta farklılaşmasında OPG, RANK ve RANKL'ın rolü (146).

2.10.2. RANK

RANK, 616 aminoasitten oluşan bir transmembran proteindir. Osteoklastojenez ve kalsiyum metabolizmasını kontrol eden RANK ayrıca preosteoklastlara RANKL'in bağlanmasını sağlayan tek reseptördür. Bu reseptör olgun ve öncül osteoklastların dışında makrofajlar, monositler, T ve B lenfositleri, fibroblastlar ve dendritik hücrelerin yüzeyinde de bulunmaktadır (139, 147). RANKL'in RANK'a bağlanması ile birçok sinyal yolağı uyarılır. RANKL, RANK'a bağlandıktan sonra oluşacak sinyallerden ilki TRAF'ın RANK'ın sitoplazmik kısmındaki kendine özgü bölüme bağlanmasıdır. TRAF2, TRAF5 ve TRAF6'nın hepsinin RANK'a bağlanmasına rağmen bunlardan sadece TRAF6'nın osteoklastlar için önemli olduğu düşünülmektedir (13, 141, 148).

2.10.3. RANKL

TNF ligand ailesinin bir üyesi olan RANKL, çözünür iki formdan oluşmuş 317 aminoasitlik bir peptiddir. RANKL, osteoklast farklılaşma faktörü, osteoprotegerin ligand, TNF ilişkili aktivasyonca indüklenmiş sitokin ve TNF süperailesi 11 gibi farklı isimlerle de anılmaktadır (141).

Kemik kütlesi osteoblast ve osteoklastların dengeli bir şekilde çalışması ile belirlenir. Osteoblastlarda bunu belirleyen temel iki yolak ise RANKL/RANK ve Wnt/ β -katenin sistemidir. RANKL fizyolojik ve patolojik durumlarda kemik rezorpsiyonunun anahtar medyatörü konumundadır ve OPG/RANKL oranı kemik kütlesini belirleyen esas faktördür (141).

RANKL, lenf nodları, timüs ve akciğerde daha fazla olmak üzere dalak ve kemik iliği gibi dokularda ve osteoblastlarda sentezlenir. RANKL sentezi, hormonlar, büyüme faktörleri, sitokinler, peptidler ve glukokortikoidler gibi birçok faktör tarafından düzenlenmektedir. 1,25-dihidroksi vitamin D3 gibi hormonlar, fibroblast büyüme faktörü-2, glukokortikoidler, paratiroid hormon, IL-1- β , IL-4, IL-6, IL-11, IL-17 ve TNF- α gibi sitokinler, PGE₂ OPG/RANKL oranını azaltarak

kemik rezorpsiyonuna yol açarken TGF- β 1 ve östrojen OPG sentezini artırarak antirezorptif etki gösterirler (13, 138-140, 147).

RANKL; öncül ve olgun osteoklastlar, uyarılmış T ve dendritik hücrelerin yüzeyinde bulunan kendine ait reseptörü RANK'a bağlanarak bu hücreleri uyarmaktadır. RANK'ın RANKL tarafından uyarılması, c-jun, NF- κ B ve serin/treonin kinaz Akt/protein kinaz B (PKB) yollarını içeren hücre içi sinyal kaskadını başlatır. Bu yolların uyarılması öncül osteoklastların olgun osteoklastlara farklılaşmasını, aktive olmasını ve canlılıklarını sürdürmelerini sağlar. RANKL'in kemikteki ana görevi osteoklast oluşumunu ve apoptozun inhibisyonunu sağlayarak kemik kaybı ve rezorpsiyonunu artırmaktır (13, 138, 141).

OPG ve RANKL'in kemik metabolizmasının düzenlenmesinde anahtar rol oynadıkları keşfedildikten sonra periodontitisteki alveoler kemik kaybındaki rolü de araştırılmaya başlanmıştır. Kronik periodontitisli hastalarda yapılan bir çalışmada, flep cerrahisi esnasında kemik defektlerine komşu granülasyon dokuları alınıp OPG ve RANKL düzeyleri immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. Periodontitisli bölgelerden alınan dokularda RANKL protein seviyesinin yüksek olduğu gözlenirken OPG seviyesi düşük bulunmuştur. RANKL'in lenfosit ve makrofajlardan, OPG'nin ise endotelial hücrelerden kaynaklandığı belirtilmiştir. Ayrıca periodontitisli dokularda birçok lökositin RANK mRNA ve tartrat-rezistant asit fosfataz (TRAP) eksprese ettikleri gözlenmiştir (149). Babur ve ark.'nın (150) pre-menopozal ve post-menopozal 44 hastada yaptıkları bir çalışmada, DOS OPG seviyeleri karşılaştırılmış ve cerrahisiz periodontal tedavinin etkisi araştırılmıştır. Düşük östrojen seviyesinin osteoklast apoptozisinde azalmaya, osteoklastojenezis ve kemik rezorpsiyonunda artışa sebep olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada hastaların kemik mineral dansiteleri ve serum östradiol (E₂) seviyeleri ölçülmüş ve menopozun periodontal duruma anlamlı bir etkisinden bahsedilemese de periodontal tedavi sonrasında serum OPG seviyelerinde anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. Giannopoulou ve ark. (151) kronik periodontitisli 6 erkek, 8 kadın hastaya faz-1 tedavi uyguladıktan sonra yapılan periodontal cerrahide dişeti örnekleri almışlar ve RANK, RANKL ve OPG ekspresyonlarını immünohistokimyasal olarak incelemişlerdir. Örneklerin çoğunda enflamatuvar hücre infiltratının %60'tan

fazlasında RANK, RANKL oral ve cep epitelinin bazal ve suprabazal tabakalarında boyanırken, OPG epitelde zayıf saptanmıştır. Bu bulgular eşliğinde periodontal dokulardan farklı eksprese edilen RANK, RANKL ve OPG'nin periodontitiste majör rol oynadığı belirtilmiştir.

2.11. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen insan yaşamı için çok önemli olmasına rağmen metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptirler. Çoğunu serbest radikallerin oluşturduğu reaktif oksijen türleri (ROT), normal oksijen molekülüyle karşılaştırıldığında kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır. Serbest radikaller, dış atomik veya moleküler orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. İçerdikleri elektron çiftleri diğer moleküller ile reaksiyona girerek zararlı patolojik sonuçlar meydana getirirler (152, 153). Süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), tekil oksijen (1O_2) ile nitrik oksit (NO), peroksinitrit ($ONOO^-$) ve peroksinitröz asit ($ONOOH$) gibi reaktif nitrojen türleri ROT'lerinin en bilinenleridir (152).

ROT, vücutta lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantin oksidaz, miyeloperoksidaz ve sitokrom P-450 gibi birçok enzimin aktivitesinin bir sonucu olarak üretilmektedir. Organizmadaki güçlü oksidan kaynaklarından birisi de, hidrojen peroksit tarafından klorid iyonlarının oksidasyonu yoluyla hipoklorik asit üretimini katalizleyen nötrofilik myeloperoksidaz enzimidir. Bu reaksiyonun toksisitesi savunma sisteminde bakterilerin öldürülmesine katkıda bulunur. Buna karşılık, oluşan hipoklorik asit aynı zamanda α 1-antiproteinaz'ı inaktive etmekte ve sağlıklı insan dokusunu zarara uğratarak enflamasyona neden olmaktadır. ROT'un zararlı etkilerine karşı vücuttaki farklı doğal savunma sistemleri serbest radikalleri kontrol altında tutmaktadır. Bu sistemler farklı hücrelerde ve farklı serbest radikaller üzerinde rol oynadıklarından birbirlerini tamamlayıcı niteliktedir. Katalaz, peroksidaz, süperoksit dismutaz, glutatyon ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler ile A, E, C vitaminleri gibi enzimatik olmayan antioksidan sistemleri bu savunma sistemlerine örnek olarak sayılabilir (152, 154).

2.12. ROT ve Periodontal Hastalık

ROT'leri tarafından oluşturulan oksidatif hasarlar ile bunların oluşumunu engelleyen birçok mekanizma bulunmaktadır. Oksidatif denge olarak adlandırılan bu ilişkide serbest radikallerin oluşmasında artış olduğunda ya da ortadan kaldırılmasında sorunlar yaşandığında oksidatif stres meydana gelmekte ve doku hasarı oluşmaktadır (152). ROT'leri DNA, protein ve lipidler gibi birçok makromoleküle olan etkileriyle katarakt, akut solunum yetmezliği sendromu, amyotrofik lateral sklerozis, muskuler distrofi, romatoid artrit, progeria ve Alzheimer hastalıkları gibi dejeneratif hastalıklar ile yaşlanmayla da ilişkisi olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (19).

ROT'leri birçok farklı yerden kaynağını almaktadır. Isı, ultraviyole ışınlar, ozon, ilaçlar, aşırı fiziksel egzersizler, sigara ve radyasyon gibi ekstresek kaynaklar ROT oluşumuna sebep olabilirken nötrofil aktivasyonları, mitokondriyal metabolizma ve oksidasyon yollarını içeren normal hücresel fonksiyonlar sonucunda da ROT oluşabilmektedir (19).

ROT yüksek reaktiviteye sahiptir ve genellikle enflamasyon bölgesi gibi yüksek oranda üretiminin olduğu yerlerde yıkıcı etki göstermektedir. Enflamasyonda aktive olan PMNL tarafından ROT'lerini de içeren birçok antimikrobiyal faktör üretilmektedir. Periodontopatojen bakteriler tarafından uyarılan PMNL'ler hücre içi üretimle ROT meydana getirip hücre dışına salmaktadırlar. PMNL'lerin dışında lenfositler, monositler, eozinofiller, osteoklastlar ve fibroblastlar da ROT üretmektedirler. Osteoklastlar tarafından üretilen ROT kemik yıkımında ve alveoler kemiğin yeniden şekillenmesinde önemli rol oynamaktadır (20).

Periodontal hastalıklarda aktive olan ve vücut savunmasında rol alan hücreler biryandan mikroorganizmalara zarar verirken diğer yandan serbest radikaller açığa çıkararak periodontal dokulardaki hücrelere ve hücreler arası yapılara zarar vermektedirler. Özellikle bakteriyel ajanlarla uyarılan PMNL tarafından salınan birçok ROT, lipid peroksidasyonuna, ekstraselüler matris bileşenlerinin depolimerizasyonuna, anti-proteazlar gibi enzimleri okside ederek, pro-enflamatuvar sitokinlere ve DNA hasarına neden olarak dişetine, periodontal ligamente ve alveoler

kemiğine oksidatif hasar verir, bu nedenle periodontitisin patogeneğinde önemli rol oynamaktadırlar (155).

Kronik periodontitisli ve agresif periodontitisli hastalarda yapılan çalışmalarda DOS ve serumda PMNL'lerin uyarılması sonrasında sağlıklı bireylere göre daha fazla ROT ürettikleri gösterilmiştir (156). Osteoklastlar tarafından üretilen süperoksit gibi ROT'lerinin NF- κ B aktivasyonuna yol açarak kemik yıkımında rol aldıkları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (157). Miricescu ve ark. (158) çalışmalarında tükürük 8-HOdG, MDA, total antioksidan kapasitesi (TAK) ve GPx seviyeleri ile kemik yıkım belirteçlerini değerlendirmişlerdir. 8-HOdG ve MDA seviyeleri kronik periodontitis grubunda daha yüksek bulunurken kemik yıkım belirteçlerinden MMP-8, 25-hidroksi vitamin D3, osteokalsin ve c-terminal telopeptit tip 1 kollajenin tükürük seviyeleri de sağlıklı gruba göre daha yüksek saptanarak ROT'leri ile ilişkili olduğu görülmüştür.

2.13. Myeloperoksidaz

Myeloperoksidaz (MPO), PMNL'lerin azurofilik granüllerinde yer alan bir enzim olup 3 izoformu mevcuttur. Nötrofil aktivasyonu ve fagositozu esnasında fagozom içerisine ve ekstraselüler olarak salınan MPO, ROT oluşturmaktadır ve dokulardaki nötrofil infiltrasyonu, oksidatif yük ve doku hasarının belirlenmesinde önemli bir belirteçtir (20). MPO'nun katalizlediği reaksiyonun ürünü olan hipokloroz asit (HOCl) güçlü bir antibakteriyel ajan olmasına karşın α 1-proteaz inhibitörünün inaktivasyonunu da gerçekleştirmektedir. Proteazlar ve antiprotealar arasındaki dengesizlik sonucunda da doku yıkımı gerçekleşmektedir (159).

Leppilahti ve ark. (160) kronik periodontitisli, gingivitisli ve sağlıklı bireylerde yaptıkları kesitsel bir çalışmada DOS'da MMP'ler ve MPO seviyelerini değerlendirmişlerdir. Periodontitisli hastalarda MMP-8 ve MPO seviyeleri diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulunurken periodontitiste önemli belirteçlerden biri oldukları gösterilmiştir. Wei ve ark.'nın (159) 19 periodontitis ve 8 sağlıklı bireyde yaptıkları diğer bir çalışmada ise GPx, laktoferin, MPO ve IL-1 β DOS seviyeleri ELİSA ile incelenmiş ve periodontal hastalıkla ilişkisi araştırılmıştır. Periodontitisli grupta MPO ve diğer belirteçler klinik parametrelerle de uyumlu

olarak anlamlı derecede yüksek bulunurken ROT'lerinin periodontal doku yıkımındaki rolü ortaya konmuştur.

2.14. Periodontal Tedavinin Amaçları ve Uygulanan Teknikler

Periodontal tedavi, enflamasyonun ortadan kaldırılmasını, patojen floranın sağlıklı hale getirilmesini, hastalığın ilerleyişinin durdurulmasını ve kaybedilen dokuların rejenerasyonunu amaçlar. Periodontal tedavi, plak kontrolü, DYT & KYD, oklüzal uyumlama ve periodontal cerrahi ile hastalığın tekrarının önlenmesi için gerekli olan kontrollerin yapılmasını içerir (161).

Periodontal tedavi 3 ana fazdan oluşmaktadır;

- i. Başlangıç periodontal tedavisi (cerrahi olmayan faz, hijyenik faz)
- ii. Cerrahi periodontal tedavi (düzeltici girişimler)
- iii. İdame ve destekleyici tedavi (periyodik kontroller)

2.15. Cerrahisiz Periodontal Tedavi

Cerrahisiz periodontal tedavi tek başına bir tedavi metodu olmakla beraber diğer iki fazın da temelini oluşturmaktadır. Cerrahisiz periodontal tedavi temelde periodontal olarak hastalıklı dişlerin kök yüzeylerindeki mikrobiyal dental plağın uzaklaştırılmasını içermektedir. Bu tedavinin amacı MDP içerisindeki canlı bakterilerin ya da kalsifiye olmuş MDP'daki bakterilerin uzaklaştırılmasıdır. MDP'daki mikroorganizmaların sayılarının azalması veya uzaklaştırılmaları ile biyofilm ekolojisi de değişir ve dişetlerindeki enflamatuvar değişiklikler kaybolmaya başlar (162). Cerrahisiz periodontal tedavi ile erken dönemdeki periodontal hastalıklar başarılı bir şekilde tedavi edilebilmekle beraber tedavinin başarısı anatomik ve morfolojik nedenlerden ötürü yeterli ve etkin bir şekilde yapılamayabilmektedir. Bu durum patojen mikroorganizmaların ortadan kaldırılarak başarı elde edilmesi için geleneksel el aletlerinin dışında ultrasonik aletler, antimikrobiyal ajanlar ve lazerler gibi destekleyici tedavilerin kullanımını gerekli kılmaktadır (27).

Küretler ile yapılan cerrahisiz periodontal tedavilerin özellikle hafif ve orta şiddetteki periodontitisli hastalarda oldukça etkili olduğuna dair araştırmalar

yapılmıştır. Dahiya ve ark. (163) kronik periodontitis hastalarında yaptıkları çalışmada kontrol grubuna el aletleri ile tedavi uygularken diğer gruba döner aletler kullanmışlardır. Tedavi başlangıcında ve 6 ay sonrasındaki Pİ, SD, KAS, sondlamada kanama ve dişeti çekilmesi yönünden değerlendirildiğinde her iki tedavi grubunda da anlamlı bir fark görülmemiştir. Almaghlouth ve ark. (164) cerrahisiz periodontal tedavinin hastalık esnasında seviyeleri yükselen serum enflamatuvar belirteçleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Orta ve şiddetli periodontitise sahip 40 hastadan oluşan çalışmada bir gruba DYT & KYD + amoksisilin&metronidazol uygulanırken diğer gruba sadece DYT & KYD uygulanmıştır. Serum örnekleri tedavi başlangıcında ve 3. ayda alınıp 15 sitokin (IL-1 β , IL-1ra, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, bFGF, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , MIP-1 β , VEGF, ve TNF- α) ve 9 akut faz proteini (α 2M, haptoglobin, CRP, serum amyloid P ve A, ferritin, fibrinogen, doku plazminojen aktivatörü, ve procalcitonin) seviyeleri değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda antibiyotikle desteklenen tedavi grubunda 3. ayda diğer gruba göre sonuçlar daha iyi olmakla beraber birçok enflamatuvar belirtecin seviyesinin de cerrahisiz periodontal tedavi ile düşüş gösterdiği bulunmuştur. Euzebio Alves ve ark. (165) kronik periodontitisli hastaların tedavisinde cerrahisiz periodontal tedaviye ilaveten diyet lazer uygulamasının klinik ve mikrobiyolojik etkilerini araştırmışlardır. 36 hastadan oluşan çalışmada tek köklü ve cep derinliği >5 mm olan dişler seçilmiş olup bir grup dişe sadece DYT & KYD uygulanırken diğer gruba 1 hafta süresince DYT & KYD + Diyet lazer (808nm, 1,5 W, 1,193.7 W/cm²) uygulanmıştır. Klinik ve mikrobiyolojik veriler başlangıçta, 6. haftada ve 6. ayda alınmıştır. KAS, SCD, SK, PI gibi klinik bulgular ile *P. gingivalis*, *P. intermedia* ve *A. actinomycetemcomitans* gibi bakteriler açısından her iki grupta da anlamlı bir farkın olmadığını bulmuşlar ancak diyet lazerin periodontal tedavideki yararlarının desteklenmesi adına daha çok araştırmanın yapılması sonucuna varmışlardır.

Tüm bu çalışmalarda görüldüğü gibi ultrasonik ve el aletlerinin kullanımı ile cerrahisiz periodontal tedavide başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Bununla beraber periodontal cep ve kök yüzeyinden bakterilerin ve toksinlerinin uzaklaştırılması, furkasyon bölgeleri, molar dişlerin distalleri ve konkaviteler gibi alanlarda her zaman mümkün olamamaktadır. Sık antibiyotik kullanımının bakteriyel direnci artırdığı da

göz önüne alındığında, teknolojinin de hızla ilerlemesiyle, yeni teknolojik gelişmelerin kliniğe uygulanabilirliği ile ilgili daha ileri araştırmaların yapılması gerekmektedir. Günümüzde araştırmaya açık ve en gelecek vadeden alanlardan birisi de lazerlerdir.

2.16. Lazerler

Periodontal tedavinin asıl hedefi cerrahi ve cerrahi olmayan tedaviler ile mikroorganizmaları azaltarak enflamatuvar süreci durdurmaktır. Periodontal hastalıkların tedavisinde günümüze kadar birçok lokal ve sistemik antibiyotik rejimi denenmiş olup antibiyotiklere direnç gelişimi sorununun yanında çoğu vakada kısıtlı etkiler gözlenmiştir. Bu nedenle lazer tedavisi subgingival mikroorganizmaların kontrolünde geleneksel tedaviye destek olarak ya da tek başına bir tedavi seçeneği olarak karşımıza çıkmaktadır (166).

1917’de Einstein’ın teorisiyle başlayan, ilk kez 1960 yılında Maiman tarafından geliştirilen lazer, 1960’ların ortalarında oftalmologların retina fotokoagülasyonunda başarılı bir şekilde lazerleri kullanmalarıyla tıp alanında ve diğer endüstriyel alanlarda önemli bir yer almaya başlamıştır. Goldman ve ark.’nın diş çürüklerinin tedavisinde lazer kullanımı ile ilgili ilk makaleyi 1964’te ‘Nature’ dergisinde yayınlamalarının ardından neodymium-doped yttrium aluminium garnet (Nd:YAG) lazerler ve karbondioksit (CO₂) lazerlerin diş çürüklerinin tedavisinde kullanımı ile ilgili diğer çalışmalar başlamıştır (167).

Lazer ‘LASER’ kelimesi ‘Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation’ kelimelerinin baş harflerinden oluşan bir kısaltmadır. Lazer ışığı tek renkli olması (monokromatik/aynı dalga boyu), doğrusal olması (ışınların paralelliği) ve ışığı oluşturan fotonların aynı fazda olması ile normal ışıktan ayrılır. Bu özellikleri ile yoğunlaştırılmış ve güçlü bir ışık elde edilir (168).

2.16.1. Temel Lazer Fiziği ve Özellikleri

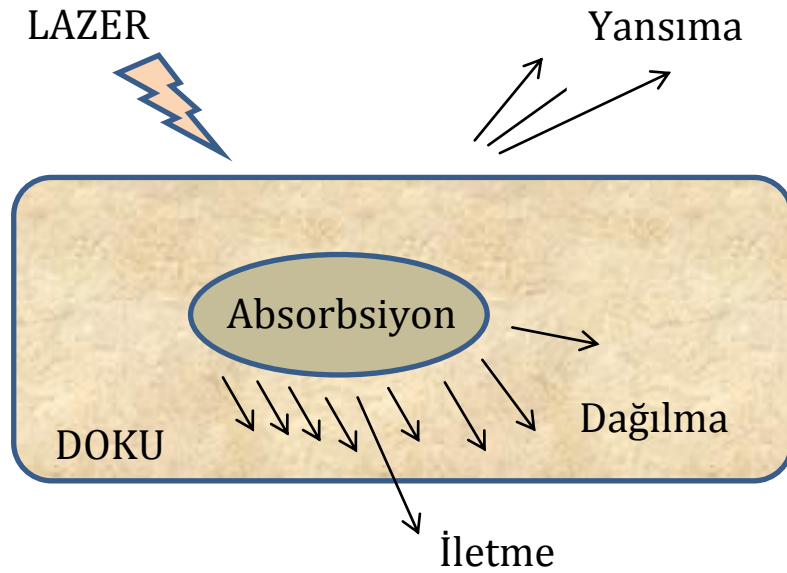
Lazer ışınının oluşması için gerekli düzenekte bir optik rezonatör içerisine yerleştirilmiş “pompalama kaynağı” da denilen ışık kaynağı, bu ışığın etkideği bir ortam (ör. Karbondioksit gazı, Erbiyum kristali veya mikroçip), ortamın iki ucunda

tam yansıtıcı ve yarı yansıtıcı aynalar ile lazer ışığının çıkış yaptığı bölmede bulunan mercekler bulunur. Lazerin temeli atom veya molekül enerji düzeyleri arasındaki elektron geçişleri ile oluşan ışık fotonlarına dayanır. Bir atoma lazer düzeneğinde olduğu gibi dışarıdan bir ışık kaynağı kullanarak ilave bir enerji gönderdiğimizde ortamdaki atom bir üst enerji seviyesine çıkmaktadır. Minimum enerji ilkesine göre atom veya moleküller düşük enerji seviyesinde olmak istediklerinden ortama foton denilen enerji parçacıkları salarak bir alt enerji seviyesine inmektedirler. Bu fotonların spontan yayılımı ise sürekli fotonların oluşmasına sebep olarak, doğada başka hiçbir yerde bulunmayan, aynı fazda, doğrusal olan ve aynı dalga boylu lazer ışığını meydana getirmektedir (168).

Işık kaynağının etkideği ortamın gaz, katı, sıvı ya da yarı iletken oluşuna göre lazerler değişik isimler alırlar. Lazerin üretim ortamında organik solvent likiti kullanılıyorsa Dye, inert gazlar (argon, kripton veya xenon) ile reaktif gazların (florin ya da klorin) karışımı kullanılıyorsa Eximer, gaz kullanılıyor ise onun ismi ile, örneğin karbondioksit gazı kullanılıyorsa karbondioksit laseri (CO₂), argon gazı ile argon laseri, helyum ve neon ile He-Ne laseri, yarı iletken Aluminyum-Galyum-Arsenid (AlGaAs) levhalarından oluşan bir mikroçip kullanılıyorsa Diyot lazer, katı ortam (solid-state) kristal kullanılan sistemlerde kristalin optik özelliklerini arttırmak için düşük konsantrasyonlarda kristale katılan “dopant” madde ismi (ör: Neodimiyum, Holmiyum, Erbiyum, Erbiyum-Krom) ve kristal ismi olan Yttrium-Aluminyum-Garnet (YAG) ya da Yttrium-Skandiyum-Galyum-Garnet (YSGG) birlikte kullanılarak Nd:YAG, Ho:YAG, Er:YAG ve Er,Cr:YSGG gibi çeşitli isimler alır. Lazerin karakterini temel olarak ortam, pompa enerjisinin kaynağı ve rezonans boşluğu belirlerken, lazer sistemi (optik fiber kablo gibi) ve uygulama tipi de lazer sisteminin uygulanma yerlerini ve enerji etkinliğini belirleyebileceğinden dolayı klinik için oldukça önemlidir (167).

Biyolojik bir doku lazerle ışımlandığında dört tip etkileşim meydana gelir. Bunlar; yansıma, dağılma, emilme veya iletmedir (şekil 2.4). Temel olarak emilme arttıkça diğer özellikler azalır. Bu dört etkileşimden hangisinin daha baskın olacağı büyük ölçüde kullanılan lazerin dalga boyu tarafından belirlenmektedir. Birçok

biyolojik doku için en yüksek emilim Er:YAG ve Er,Cr:YSGG lazerleri gibi suda emiliminin daha yüksek olduğu lazer dalga boylarında gözlenmektedir (167).



Şekil 2.4. Lazer uygulamasının dokudaki etkileri

2.16.2. Periodontal Tedavide Lazerler

Periodontal hastalıkların tedavisinde lazer kullanımı esnasında hem sert hem de yumuşak dokular etkilenmektedir. Lazerlerin diş hekimliğinde kullanılmaya başlanmasından itibaren lazerlerin kök yüzeyinden diş taşı kaldırma etkinlikleri üzerine birçok araştırma yapılmıştır. CO₂ lazerin bu amaçla kullanımında diş sert dokuları tarafından yüksek derecede emilmesi sonucunda yüksek ısı artışı, organik bileşenlerde karbonizasyon ve inorganik kısımda ise erime olayları meydana gelmiştir. Ayrıca kök yüzeyi ve dentinde oluşturduğu toksik birikimler ve karbonizasyon ile periodontal dokuların tekrar yapışması için uygun olmayan bir yüzey meydana gelmektedir (167, 169). Nd:YAG lazerler kliniğe uygun enerji modunda kullanıldıklarında diştaşı uzaklaştırmada yetersiz kalmaktadırlar. Bu lazerlerin aksine Er:YAG ve Er,Cr:YSGG lazerler, ultrasonik ve DYT & KYD ile yapılan subgingival diştaşı uzaklaştırmasına yakın etkiler göstermişlerdir. Diyet ve Nd:YAG lazerlerin derin penetrasyon özelliklerinden dolayı pulpal ısının artması riski bulunurken Er:YAG lazerler kullanılan soğutma ile güvenli bir kullanım alanı

bulmaktadır. Yapılan çalışmalarla diyot, Nd:YAG, CO₂ lazerlerinin diş sert dokularında kullanımının uygun olmadığı, sadece gingivektomi ve frenektomi gibi yumuşak doku cerrahisinde uygun oldukları kabul görmüştür (167).

2.16.3. Diyot Lazerler

Diyot lazerler yarı iletken katı hal lazerleridir. Dalga boyları 800-980 nm arasında değişiklik göstermektedir ve suda emilimleri oldukça düşük olup pigment ve hemoglobinde emilimi yüksektir. Bu lazerler oral mukoza ve dişetin kesilmesi, koagülasyonu, sulkuler debridement ve küretajı için ideal yumuşak doku lazerleridir (168). Diyot lazerler genelde subgingival küretaja yardımcı olarak ve periodontal ceplerin dekontaminasyonunda kullanılmaktadırlar (22).

Moritz ve ark. (22) periodontal ceplerin diyot lazer ile tedavisinin uzun dönem sonuçları üzerine bir araştırma yapmışlardır. 50 hastadan oluşan çalışmada bir gruba DYT & KYD ve diyot lazer uygulanırken diğer gruba DYT & KYD yapılmıştır ve en derin cebe sahip dişlerden mikrobiyolojik örnekler alınmıştır. 6 ay sonra yapılan ölçümlerde lazer uygulanan gruptaki SK, SCD gibi klinik parametreler ile *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* ve *P. gingivalis* gibi mikroorganizmalardaki azalış yönüyle diğer gruba göre daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Diş taşı temizliğine ek olarak diyot lazer kullanımının periodontal ceplerdeki enflamasyonu azalttığı, bakterisit etkinin ortaya çıktığı ve bu kombine kullanımın periodontal ceplerden bakterilerin eliminasyonunu ve iyileşmeyi desteklediği sonucuna varmışlardır. Caruso ve ark. (170) kronik periodontitisli hastalarda DYT & KYD'ye ilave olarak diyot lazer uygulamışlar, klinik ve mikrobiyolojik etkilerini değerlendirmişlerdir. Bir gruba sadece DYT & KYD uygulanırken diğer gruba DYT & KYD ve diyot lazer tedavisi kombine uygulanmıştır. Tedavi başlangıcında, 4. haftada, 8. haftada, 12. haftada ve 6. ayda SK, KAS, GI, PI ve cep derinliği gibi klinik ölçümler ile subgingival plak örneklerinden A. Arama Sonuçları

A. actinomycetemcomitans, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Campylobacter rectus*, *F. nucleatum*, *Tennerella forsythia*, *Eikenella corrodens* ve *Treponema*

denticoladan oluşan 8 periodontopatojen bakterinin PCR tekniğiyle ölçümleri yapılmıştır. DYT & KYD ve diyot lazerin beraber uygulandığı grupta klinik parametrelerde anlamlı bir iyileşme gözlenirken bakteri azalmasında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Kreisler ve ark. (171) çalışmalarında geleneksel periodontal tedaviye ilave olarak kullanılan yarı iletken bir lazerin klinik etkilerini değerlendirmişlerdir. Aynı hastaya hem DYT & KYD hem de 809 nm GaAlAs diyot lazer (1,0 W, 0,6 mm optik fiber, 30s) kullanılarak tedaviler toplam 492 dişte gerçekleştirilmiştir. Klinik veriler başlangıçta ve 3 ay sonra alınmıştır. Çalışma sonunda lazer ile tedavi edilen dişlerde, mobilite, SCD ve KAS'da anlamlı derecede iyileşmeler görülmüştür. Lazerle tedavi edilen grupta 3 mm ve üzeri KAS kazancı %12 iken kontrol grubunda %7, 2-3 mm KAS kazancı ise lazer grubunda %24 iken kontrol grubunda %18 olarak bulunmuştur. PI, GI, SK, ve DOS akış oranının iki grupta da benzer olduğu gözlenmiştir. Diyot lazerin periodontal ceplerde bakterileri azaltmasının yanında cep epitelini deepitelize ederek bağ dokusu ataşmanını artırdığı düşünülmüştür. Bu yönleriyle periodontitis tedavisinde diyot lazer uygulamasının DYT & KYD'ye ilave olarak güvenle kullanılabilceği vurgulanmıştır.

Bu çalışmada deneysel periodontitis oluşturulan ratlarda DYT & KYD'ye ilaveten uygulanan diyot lazer uygulamasının, alveoler kemik kaybı üzerine etkisinin, enflamasyon üzerine etkisinin, periodontal hastalığın sistemik belirtilerini gösteren serum CRP düzeyine etkisinin ve dişetinde hastalığın lokal bulgularını gösteren IL-1 β , IL-6, TNF- α , MMP-8, MPO, RANK, RANKL ve OPG düzeylerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

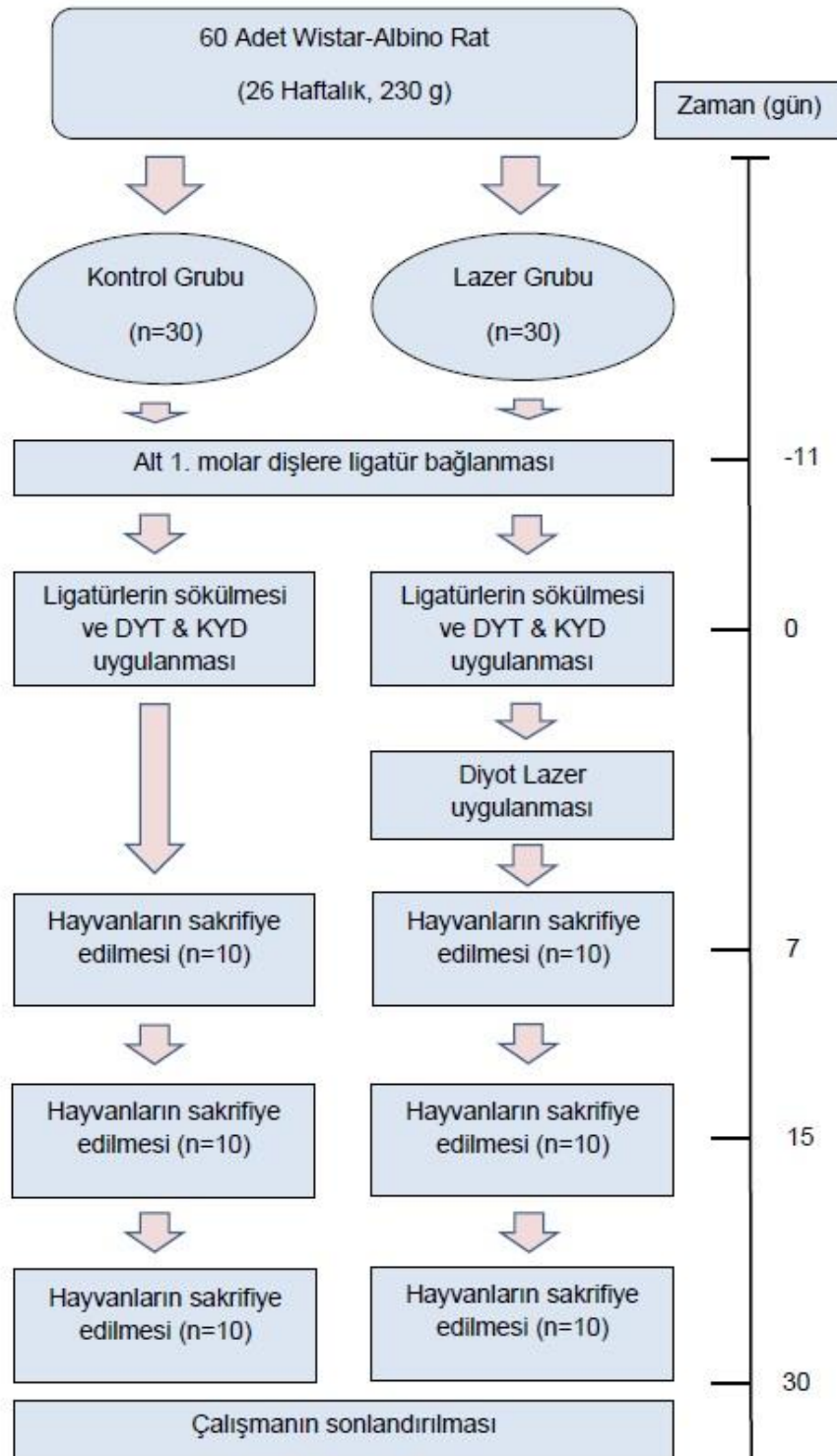
Bu araştırma için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Etik Kurulu'ndan onay alındı (EK). Ratlar üzerinde yapılan tüm çalışmalar İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışmada her biri ortalama 230 g ağırlığında 60 adet Wistar-Albino türü rat kullanıldı. Ratlar aynı merkezde her bir kafeste 5 hayvan olacak şekilde rastgele yerleştirildi ve havalandırma tertibatı olan 20-22° C'lik sabit oda sıcaklığında tutulmaları sağlandı. Ratlar standart rat yemi ve suyu ile beslendi.

3.2. Deneysel Çalışma Modeli

Şekil 3.1'de deneysel çalışma modeli belirtildi. 'Power and Sample Size' programı kullanılarak yapılan güç analizi sonucunda kemik kaybı parametresi için tahmini ortalama: 0,4; standart sapma: 0,2 aldığımızda güç: 0,80 ve α : 0,05 için tespit edilen örneklem sayısı her bir zaman için minimum n:5 olarak saptandı (172). Toplamda 60 rat her bir grupta 30 hayvan olacak şekilde rastgele seçilerek 2 gruba ayrıldı:

Kontrol Grubu (n=30); deneysel periodontitis oluşturulmuş ratlara sadece DYT & KYD uygulandı.

Lazer Grubu (n=30); deneysel periodontitis oluşturulmuş ratlara DYT & KYD + diyet lazer (Gigaa Cheese GaAlAs Diyet Lazer, Wuhan, Çin) Dalgaboyu: 810 nm. Güç: 1,0 W, 10 J, T-on_ms:500, T-off_ms:500, kontak modda, 400 μ m fiber optik uç ile cebin içine toplam 20 s olacak şekilde uygulandı.



Şekil 3.1. Deneysel periodontitis çalışma grupları ve uygulamaları.

Araştırmaya dahil olan hayvanların tümüne intraperitoneal olarak ketasol (30 mg/kg, Richterpharma AG. Weis, Avusturya) ve Xylazinbio (5 mg/kg, Bioveta PLC., Çek Cumhuriyeti) uygulandı. Anestezi sağlandıktan sonra Williams sondu (Hu-friedy Co. Inc., Chicago, IL, USA) ile periodontal cep derinliği ölçümü yapılarak ratlar periodontal sağlık açısından değerlendirildi ve alt çene sağ ve sol birinci ve ikinci büyük azı dişleri arasından 3-0 ipek suture materyali (Doğsan Tıbbi Malzeme Sanayi A.ş, Türkiye) geçirildi. Süturlar birinci molar dişlerin etrafında subgingival yerleştirilerek vestibülde sıkıca düğümlendi (Şekil 3.2). Deneysel periodontitis oluşturmak amacıyla bağlanan süturlar 11. günde anestezi altında alındı (Şekil 3.3).



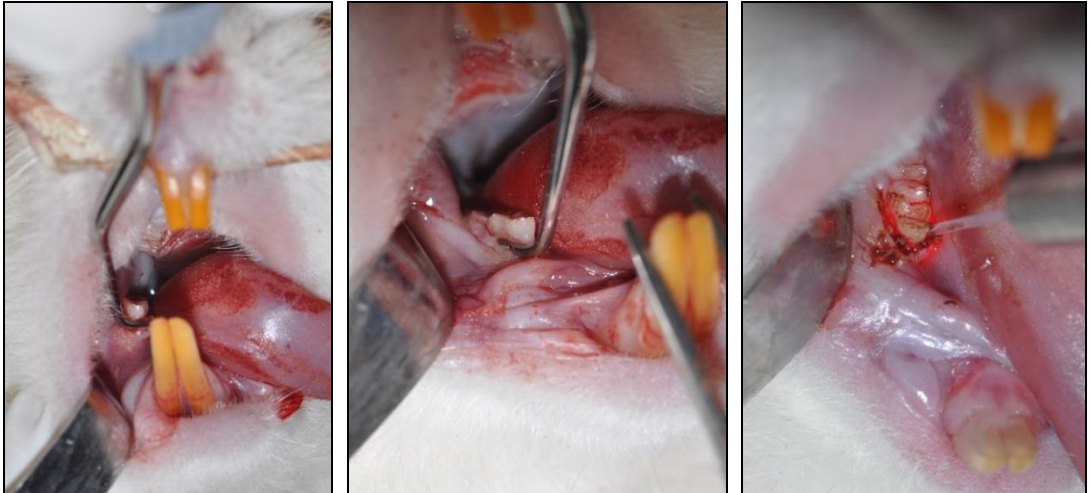
Şekil 3.2. Ratlarda suture bağlanarak deneysel periodontitis oluşturulması.

Süturların alındığı aynı gün tüm ratların birinci ve ikinci molar dişlerinin bukkal ve lingual yüzeylerinde 1-2 micro mini five Gracey küreti (Hu-friedy Co. Inc., Chicago, IL, USA) ile mesio-distal yönde 10 çekme hareketi yapıldıktan sonra interproksimal alanlarda da servikal-oklüzal yönde aynı uygulama yapılarak DYT & KYD işlemi gerçekleştirildi (173). B Grubundaki ratlara DYT & KYD'ye ilave olarak kontak diyet lazer uygulanarak her iki deney grubu için müdahaleler tamamlanmış oldu (Şekil 3.4). 7., 15. ve 30. günlerde her gruptan 10 adet rat derin anestezi altında sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen ratların sağ alt birinci molar dişleri

biyokimyasal ve radyografik değerlendirmeler için, sol alt birinci molar dişleri ise histopatolojik değerlendirmelerde kullanıldı.



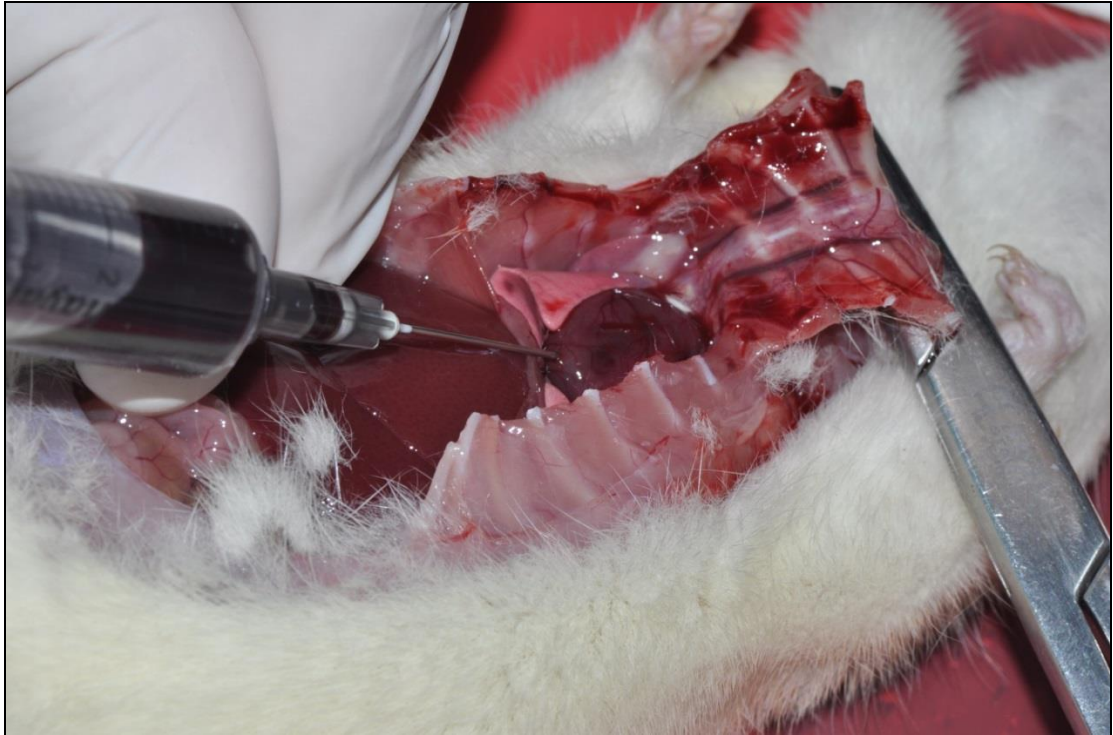
şekil 3.3. 11. Günde sütur bağlanan dişte plak birikimi.



şekil 3.4. DYT & KYT ve Diyot lazer uygulanması.

3.3. Doku ve Kan Örneklerinin Alımı

Derin anestezi (Ketasol, 30 mg/kg ve xylazinbio, 5 mg/kg intraperitoneal enjeksiyon) altına alınan ratlardan öncelikle göğüs kafesleri açılarak 10 ml'lik enjektörlerle kalplerinden kan alındı (Şekil 3.5). Alınan kanlar 3000 devirde +4 °C'de 10 dk santrifüj edildikten sonra elde edilen serum örnekleri Eppendorf tüplerine konarak biyokimyasal analizler yapılana kadar -80°C derin dondurucuda saklandı. Daha sonra ratlar sakrifiye edilerek alt çeneleri ratın baş kısmından ayrılarak çıkarıldı. Molar bölgesi dışındaki deri, yağ ve kas gibi dokular uzaklaştırıldıktan sonra alt çene sağ ve sol olmak üzere simfiz bölgesinden bistüri yardımıyla iki kısma ayrıldı. Sağ mandibuladan radyografik incelemeler için dental röntgen cihazı (Belmont 303-Phot X-II, Takara Belmont Corp. Japan) ile standart periapikal radyografiler alındı. Radyografi işlemleri tamamlandıktan sonra molar dişlerin etrafındaki kemik, dişeti ve yumuşak dokular serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra biyokimyasal analizler yapılana kadar -80°C derin dondurucuda muhafaza edildi.



Şekil 3.5. Ratların kalbinden kan alınması.

Histolojik incelemelerde kullanılacak olan sol mandibular diş, dişeti ve kemik dokuları %10'luk nötral formaldehite alınarak kimyasal tespiti sağlandı. %10'luk nötral formaldehitteki tespitten sonra örneklerin dekalsifikasyonu için 72 saat süresince % 10'luk formik asit solüsyonuna alındı. Dokular kasetlenerek histolojik incelemeye uygun duruma getirildikten sonra dehidratasyon ve şeffaflaştırma işlemleri uygulanıp parafin bloklara gömüldü. Mesio-distal ekseninde longitudinal olarak diş kesitlerinin görülmeye başladığı ilk kesitten itibaren rotary mikrotom ile seri parafin kesitleri alındı ve değerlendirildi.

3.4. İmmünolojik Analizler

3.4.1. Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi

Elektroforez, protein ve nükleik asitler gibi yüklü taneciklerin belirli bir pH'da elektriksel ve iyonize bir ortamda molekül büyüklüğü veya yük farklarına göre ayrılması ve saflaştırılmasında yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Poliakrilamid jel elektroforezi, proteinlerin analizinde birçok laboratuvarında yaygın olarak kullanılan bir tekniktir.

Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAJE) sisteminde akrilamid monomerlerinden yararlanır. Amonyum persülfat (APS) gibi reaksiyon başlatıcı bir serbest radikal ile N, N, N', N', -tetrametil-ethylendiamin (TEMED) gibi katalizör olarak rol oynayan bir ortamda akrilamid monomerleri uzun zincirler oluşturacak şekilde polimerleşmekte ve sonra oluşan bu uzun zincirler arasında yan bağlantılar oluşarak jel meydana gelmektedir. SDS- PAJE analizinde; jelin yapısında yer alan sodyum dodesil sülfat ve β -merkaptöetanol gibi denatüre edici maddeler ile proteinler, üç boyutlu yapıdan linear yapıdaki monomer alt birimlerine ayrılarak poliakrilamid jelde dağılırlar. Merkaptöetanol, S-S köprüleri ile birbirine tutunan protein alt birimlerini ayırır. Sodyum dodesil sülfat bağlantılı polipeptid kompleksleri, molekül ağırlıklarına bağlı olarak jel içerisinde hareket ederler. Hareket eden moleküllerin ağırlıkları; aynı jel üzerinde bulunan bir standartla karşılaştırılarak tespit edilir. Sodyum dodesil sülfat moleküllerine bağlanan denatüre polipeptidler negatif yük kazanırlar. Protein moleküllerinin hareketi güç kaynağından gelen elektrik akımına göre negatif kutuptan pozitif kutuba

doğru olur. Bu moleküllerin hareketi, elektriksel alanın gücüne, partikülün net yüküne ve elektroforez ortamının yoğunluğuna bağlıdır. İncelenecek protein molekülleri Őayet 0–43 kDa aralığına tekabül ediyorsa akrilamidin konsantrasyonu %15, 40 kDa'dan yukarı ise akrilamidin konsantrasyonu %10 veya daha aŐađı dűŐürölür. Diđer bir ifade ile molekülün ağırlığı arttıkça akrilamidin konsantrasyonu dűŐürölür. Akrilamid konsantrasyonunun artıŐı jel iğerisindeki porların ıpının daralmasına, konsantrasyonun azalması ise porların ıpının geniŐlemesine neden olmaktadır. Dolayısıyla protein moleküllerinin hareket hızı da konsantrasyon arttıkça azalmaktadır (174).

Tamponlar akımı ileten iyonları taŐır ve pH'ı nisbeten sabit bir değerde tutar. SDS- PAJE'de kullanılan tamponlar Őunlardır:

- i. Ayırma jeli tamponu
- ii. Yükleme jeli tamponu
- iii. Tank (yürütme) tamponu

Kullanılan  zeltiller

- 1.5 M Tris-HCl (pH 8,8)
- 0.5 M Tris-HCl (pH 6,8)
- % 10 Sodyum dodesilsülfat  zeltisi
- %30 Akrilamid/Bisakrilamid  zeltisi
- %10 Amonyum persülfat  zeltisi
- N, N, N', N', -tetrametil-ethylendiamin
- Gliserin
- 2-β-merkптоethanol
- %0,05 Bromofenol blue  zeltisi
- Boyama  zeltisi (Stain solusyon/100 ml):

%0.1 Coomassie blue R-250

%45 Metanol

%10 Glasiyal asetik asit

%45 Distile su

- Boya çıkarma çözeltisi (Destain solusyon/100ml):

%45 Metanol

%10 Glasiyal asetik asit

%45 Distile su

- Tank solusyonu (Yürütme tamponu, pH 8.3):

Tris base 9.0 gr (0.025 M)

Glisin 43.0 gr (0.192 M)

Distile su 600 ml

% 0.1 SDS

Tablo 3.1. SDS-PAJE İçin Jellerin Hazırlanması.

Ayrırma jelinin hazırlanması (%12)	Miktar
Distile su	3.35 ml
1,5 M Tris-HCl (pH 8.8)	2.5 ml
% 10 SDS	0.1 ml
Akrilamid /Bis (%30)	4.0 ml
Amonyum persülfat (%10)	0.05 ml
TEMED	0.005 ml

Tablo 3.1 (Devam). SDS-PAJE İçin Jellerin Hazırlanması.

Toplam	10.0 ml
Yükleme jelin hazırlanması (%4)	Miktar
Distile su	6.1 ml
0.5 M Tris-HCl (pH 6.8)	2.5 ml
SDS (%10)	0.1 ml
Akrilamid-Bis (%30)	1.3 ml
Amonyum persüfat (%10)	0.05 ml
TEMED	0.01 ml
Toplam	10.0 ml

3.4.2. Total Protein Miktarının Spektrofotometrik Analizi

Örneklere ait homojenatların içerdiği toplam protein miktarı Lowry yöntemine göre belirlenmiştir (175).

Kullanılan Çözeltiler:

- **Na₂CO₃ (Sodyumbi Karbonat)(%2):**2 g Na₂CO₃ üzeri 100 ml'ye 0.1 N NaOH ile tamamlanır.
- **Na-K Tartarat(Sodyum Potasyum Tartarat)(%1):** 1 gNa-K Tartarat üzeri 100 ml'ye dH₂O ile tamamlanır.
- **CuSO₄ (BakırSülfat) (% 0.5) :**0.5 g CuSO₄ üzeri 100 ml'ye dH₂O ile tamamlanır.

- **Alkali Bakır:** 48ml % 2'lik Na₂CO₃ çözeltisine 1 ml % 1'lik Na-K Tartarat çözeltisi ve 1 ml % 0.5'lik CuSO₄ çözeltisi ilave edilir.
- **Folin:** 1:1 oranında dH₂O ile seyreltilir.
- **Bovine Serum Albumin'in (BSA):** 1 mg/ mL olacak şekilde dH₂O ile çözülür.

Alkali ortamda bakır iyonu (Cu⁺²) proteinlerdeki peptid bağları ile bir kompleks oluşturur ve Cu⁺¹ e indirgenir. İndirgenmiş bakır ve proteinlerin yan zincirinde yer alan Tyr, Trp ve Cys aminoasitleri Folin reaktifini indirgeyerek renk oluşumuna neden olur. Oluşan rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve 600 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülebilmektedir. Bu amaçla; her bir tüpe 0, 20, 40, 60, 80, 100 µl BSA, 2 ml alkali bakır eklendi ve 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra, her tüpe 0.2 ml folin reaktifi eklendi ve vortex edildi. Oda sıcaklığında 30 dk. inkübe edildi. 600 nm dalga boyunda her numunenin absorbansı belirlenerek standart olarak kullanılan bir kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Standartlar ve örneklerin spektrofotometrik analizleri hata payını minimuma indirmek için iki tekrarlı gerçekleştirildi. Spektrofotometrik analiz için her bir homojenattan 75 µl alındı, üzerine 975 µl dH₂O eklenip seyreltilerek üzerlerine alkali bakır çözeltisi ilave edildi ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyonu takiben her bir örneğe folin belirteci eklenerek 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda 600 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Optima, Tokyo, Japan) değerler okundu. Spektrofotometre sonuçları regresyon yöntemi aracılığıyla değerlendirilerek, her bir homojenatın toplam protein miktarı hesaplandı.

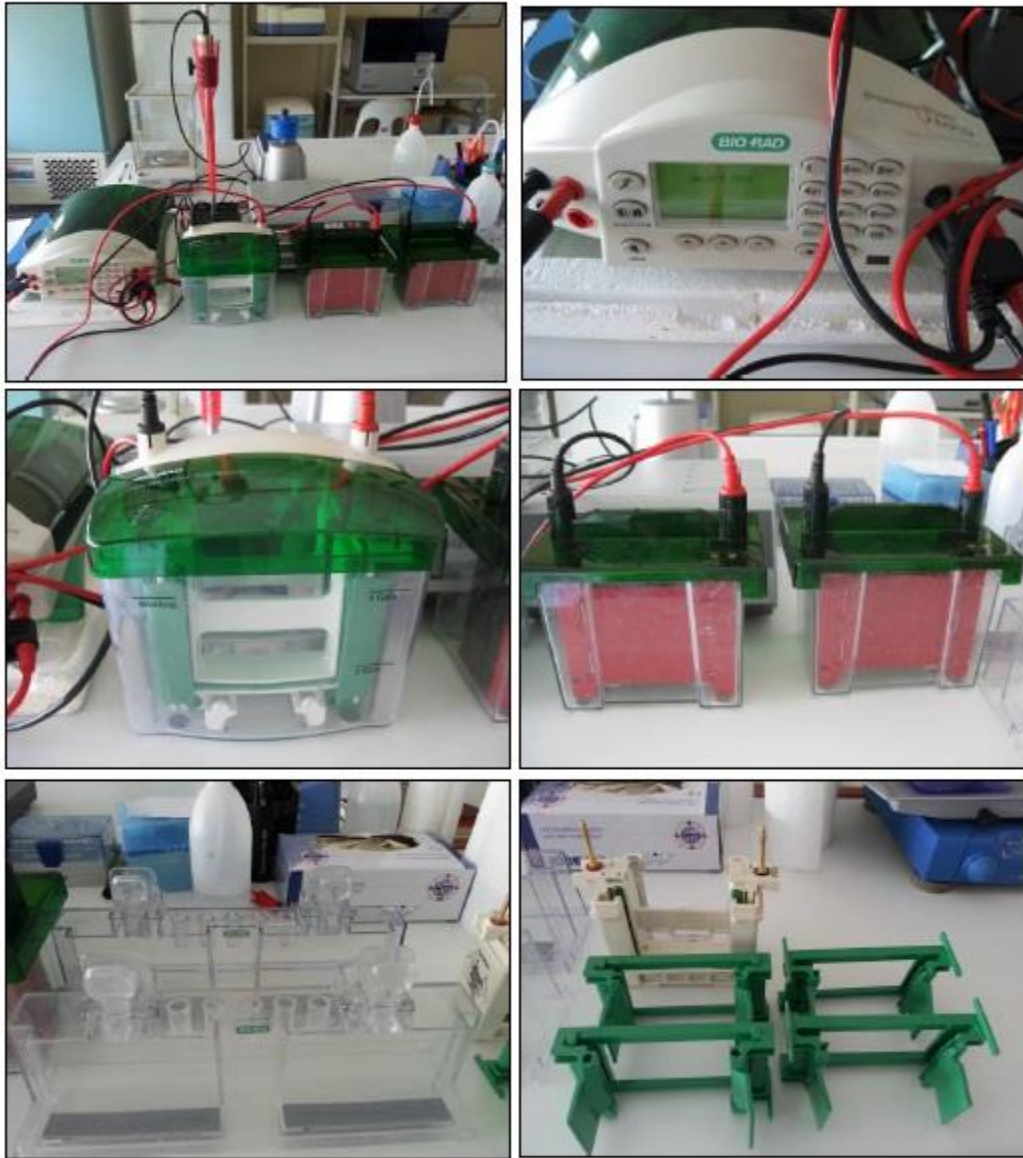
3.4.3. SDS-PAJE Analizleri

Serbest ve serbest olmayan protein örnekleri Laemmli ve ark.'nın (174) belirttiği şekilde hazırlanan SDS-PAJE ile incelendi. Jel oluşturmak için uygun bir pozisyonda tutturulan iki cam arasına yerleştirilmek üzere 10 ml'lik ayırma jel solüsyonu hazırlandı. Kaset haline getirilen cam plaklar jel kaseti standına yerleştirildi. Hazırlanan ayırma jeli solüsyonu iyice karıştırıldıktan sonra uygun bir otomatik pipet ile iki cam plak arasına aktarıldı. İki cam plak arasına jel ilave edilirken üst kısımda tarak dişlerinin yüksekliği kadar bir boşluk bırakıldı.

Hazırlanan kaset şeklindeki bu iki cam levha arasındaki jel yaklaşık olarak 30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek aralarındaki akrilamid monomerlerinin polimerleşmesi sağlandı. Daha sonra iki cam levhanın üst kısmına protein örneklerini yükleme kuyusu oluşturmak için örnek sayısına uygun sayıda dişe sahip tarak yerleştirildi. 10 ml kadar yükleme jeli iyice karıştırılıp hazırlandıktan sonra bu jel solusyonu, jel kasetine yerleştirilmiş olan tarak dişleri arasındaki boşluğa iki camın en üst seviyesine kadar uygun bir otomatik pipet yardımıyla döküldü. Yükleme jeli çok çabuk polimerize olduğundan işlemlerin kısa sürede yapılmasına dikkat edildi. 30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek polimerleşme sağlandı. Tarak, polimerleşmesi tamamlanan jelden çıkarıldı. Bu işlem sırasında jel de meydana gelen ve örneklerin bırakılacağı kuyuların bozulmamasına dikkat edildi. Jeli taşıyan cam plakalar elektroforez iç modülüne yerleştirildikten sonra elektroforez tankına bırakıldı ve tanka yürütme tamponu konuldu. Tank solusyonu; 0,125 M Tris (pH 6,8), %2'lik SDS, %0.005 oranında Bromofenol mavisi, %20'lik gliserol, %10'luk merkaptotanol şeklinde hazırlandı. Alınan her bir protein örneğine eşit hacimde çözücü solusyondan ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Molekül ağırlığı bilinen standart protein örnekler ve 14 l kadar hazırlanan karışım, yükleme jelindeki tarak dişlerinin oluşturduğu kuyulara yüklendi. Tank kapağı kapatılarak güç kaynağına bağlandı ve akım verildi. Çıplak gözle izlenilebilen mavi boya bandı jelin alt kısmına gelince elektroforez cihazı kapatıldı. Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra kaseti oluşturan iki cam birbirinden ayrılarak aradaki jel çıkarıldı. Protein bantlarının görünür hale gelmesi için jel boyama solüsyonuna alındı. Burada bir gece oda sıcaklığında bekletildi. Boya solüsyonundan alınan jel, protein bantlarının dışındaki boyayı gidermek için boya çıkarma çözeltilisine (Destain solüsyon: % 45 metanol, % 10 glasiyal asetik asit, %45 distile su) alındı (Şekil 3.6 ve 3.7).



Şekil 3.6. Dokuların homojenize edilmesi ve blotlama.



Şekil 3.7. Poliakrilamid jel elektroforezi için kullanılan düzenek.

3.4.4. Western Blotlama

Elektroforezde birbirinden ayrılan protein bantlarından herhangi birinin diğerlerinden spesifik antikorlar kullanılarak ayırt edilmesi tekniğine Western blot yada immünoblot adı verilmektedir. Blotlama yapılmadan önce çalışılan örneklerdeki proteinler elektriksel ortamda poliakrilamid jel üzerinde göç ettirilmektedir. Proteinlerin elektroforezleri SDS-PAJE'de gerçekleştirilmektedir. Western blot tekniği, elektroforez işlemini takip eden 4 aşamada gerçekleştirilir. Bunlar;

1. Jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana aktarımı (blotlama),
2. Spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama),
3. Özgül antikorlarla tepkime,
4. Proteinlerin görüntülenme aşamalarıdır.

Jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana aktarımı (blotlama), (Schleicher and Schuell, Inc., USA): SDS-PAJE tamamlandıktan sonra poliakrilamid jel blotlanmak üzere alındı. Blotlama düzeneğine aralarında kabarcık kalmayacak şekilde birkaç kat filtre kağıdı yerleştirilip üzerine transfer solüsyonu döküldü. Nitroselüloz membran filtre kağıdının üzerine konulduktan sonra poliakrilamid jel, membran üzerine gelecek şekilde yerleştirildi ve tampon solüsyonu döküldü. Islaklık ortamın elektrik geçirgenliğini oluşturarak üstten alta doğru yani poliakrilamid jelden nitroselüloz membrana doğru protein transferini sağlar. Soğutulmuş tampon solüsyonuyla doldurulmuş tanka yerleştirilen düzenek için 60 dakika boyunca elektrik akımı uygulandı. Bu şekilde proteinlerin transferi sağlanmış oldu.

Spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama): Bloklama membranla antikorlar arasındaki spesifik olmayan bağlanmaları en aza indirmek için uygulanır. Blotlama işlemi bittikten sonra petri kutularına alınan nitroselüloz membranlar tampon solüsyonla [$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.025 M), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0.075 M), NaCl (1.45 M)], çalkalayıcı üzerinde 3 kez 5 dakika olacak şekilde

yıkandı. Spesifik olmayan bağlanmalar, 100 mM NaCl, 20 mM Na₂HPO₄, 20 mM NaH₂PO₄ (pH: 7,2) tamponunda % 1'lik taze sığır serum albumini (BSA) ile 37 °C'de 90 dakikalık inkübasyonla bloklandı.

Özgül antikorlarla tepkime: Primer antikorlar olarak, IL-1 β , IL-6, MMP-8, TNF- α , MPO, RANK, RANKL ve OPG rabbit poliklonal antikorlar (Santa Cruz Biotechnology, ABD) kullanıldı. Primer antikorlar % 0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:1000 oranında hazırlanarak kullanıldı. Nitroselüloz membranlar; primer antikorlar ile +4 °C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Bağlanmamış ajanların elimine edilmesi için daha sonraki safhada, nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solüsyonuyla yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra nitroselüloz membranlar % 0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:1000 oranında hazırlanan, peroksidazla konjuge edilmiş goat-anti-rabbit immünoglobulinle 37 °C'de 90 dakika süreyle inkübasyona bırakıldı. Sonraki aşamada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solüsyonuyla yıkandı.

Bantların görüntülenmesi için 1 M Tris (pH: 7,4) tamponunda % 0.03–0.05 oranında hazırlanmış 3,3'-diaminobenzidintetrahidroklorid (DAB) solüsyonu kullanıldı. DAB'la reaksiyon sonucu nitroselüloz membranlar üzerindeki bantlar kısa bir süre sonra görünür hale geldi. 5–10 dakikalık bir reaksiyon süresi sonunda DAB'la renklendirilen bantlar net olarak görüldükten sonra nitroselüloz membranlar iyice yıkandı. Nitroselüloz membranlar iyice kurutulduktan sonra, bantların rölatif yoğunlukları analiz edilmek üzere alındı. Bantların rölatif yoğunlukları Image Analyses System (Image J; National Institute of Health, Bethesda, USA) programıyla analiz edildi (Şekil 4.9).

3.5. Histolojik Analizler

Mikrotom (Finesse ME+, Thermo Fisher Scientific, UK) ile tüm rat çenelerinden alınan 4 μ m kalınlığındaki kesitler, dokuların histopatolojik değerlendirilmesi, kollajen liflerin, dişeti dokusunun gösterilmesi ve değerlendirilebilmesi amacıyla hematoksilin eosin (H&E) ile boyandı (Şekil 11-16). Gruplara ait diş ve dişeti dokuları; epitel yüksekliği, kollajen lif yoğunluğu ve

enflamasyon hücresi infiltrasyonu açısından değerlendirildi. Enflamasyon bulgularının değerlendirilmesin aşağıdaki kriterler uygulandı;

Enflamatuvar Hücre Skorlaması, enflamatuvar hücre infiltrasyonunun (EHİ) histopatolojik olarak değerlendirilmesi hücrelerin varlığına göre yapıldı.

Skor 0: Hücrelerin yokluğu

Skor 1: Minimum düzeyde hücre varlığı

Skor 2: Orta düzeyde hücre varlığı

Skor 3: yüksek düzeyde hücre varlığı (176, 177).

Işık mikroskopisi değerlendirmeleri; enflamatuvar hücre yoğunluğu için hücreler 40x ve 100x büyütmeye sahip objektif ile Olympus BX51 (Olympus Corp. Japan) ışık mikroskobuna bağlı DP71 kamera yardımıyla fotoğraf çekimleri yapıldı ve değerlendirildi. Histometrik incelemeler için ise Olympus DP Controller 3.1.1.267 (Olympus, Japan) yazılımı kullanıldı.

3.6. Radyografik Ölçümler ve Değerlendirilmesi

Radyografik çekimler tüm ratların biyokimyasal analizlerde kullanılacak olan sağ çenelerinde gerçekleştirildi. Sakrifiye edilen tüm ratların sağ mandibulaları, serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra radyografiler alındı. Doz ayarlamasının yapılması amacıyla uzun kon kullanılarak pilot bir çekim gerçekleştirildi. Kemik rezorpsiyonlarının ölçümünde kalibrasyonu sağlamak amacıyla röntgenler çekilirken mandibula dokusunun yanına step wedge yerleştirildi. Röntgen çekimleri film-odak mesafesi 50cm, 70 Kvp, 7mA ve 0,4 s süreli olarak yapıldı (Belmont 303-Phot X-II periapikal röntgen cihazı Takara Belmont Corp. Japan). Elde edilen radyografik filmler periapikal film tarama özelliğine sahip bir tarayıcı (Soredex, Digora Optime) ile bilgisayar ortamına aktarılıp Planmeca Romexis Version:2.8.1.R (Planmeca Oy, Helsinki, Finlandiya) Programı ile dişlerin mesial ve distal kemik ölçümleri yapıldı. Lucinda ve ark. (178) tarafından yapılan çalışma referans alınarak radyografik değerlendirmelerde 3 bölgenin ölçümü dikkate alındı. Bunlar; distal/mesial kökün

apeksi, diş kret kemiğinin distal/mesial yüzeyi ve distal/mesial cusp'ın en üstü (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Mesial ve distal periodontal kemik oranlarının gösterimi. Distal (e) / mesial (c) kökün apeksi, diş kret kemiğinin distal (f) / mesial (b) yüzeyi ve distal (d) / mesial (a) cusp'ın en üstü.

3.7. Biyokimyasal Analiz

Ratlardan alınan kanlar +4 °C'de 3000 devirde santifüj edilerek serum elde edildi. Serum örnekleri kademeli olarak önce +4 °C sonra -20 °C en sonunda da numunelerin çalışılacağı güne kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Kan serumlarından C reaktif protein (Nefelometrik yöntem- Beckman Coulter Image Kit, Amerika Birleşik Devletleri, Cihaz; Olympus AU 2700, Amerika Birleşik Devletleri) analizleri yapıldı.

3.8. Verilerin İstatistiksel Analizi

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren parametrelerin zamanlara göre karşılaştırmalarında Oneway Anova testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Tukey HDS testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin zamanlara göre karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Normal dağılım gösteren parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Student t test, normal dağılım göstermeyen parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Western Blot Bulgular

Tablo 4.1: IL-1 β değerlendirilmesi.

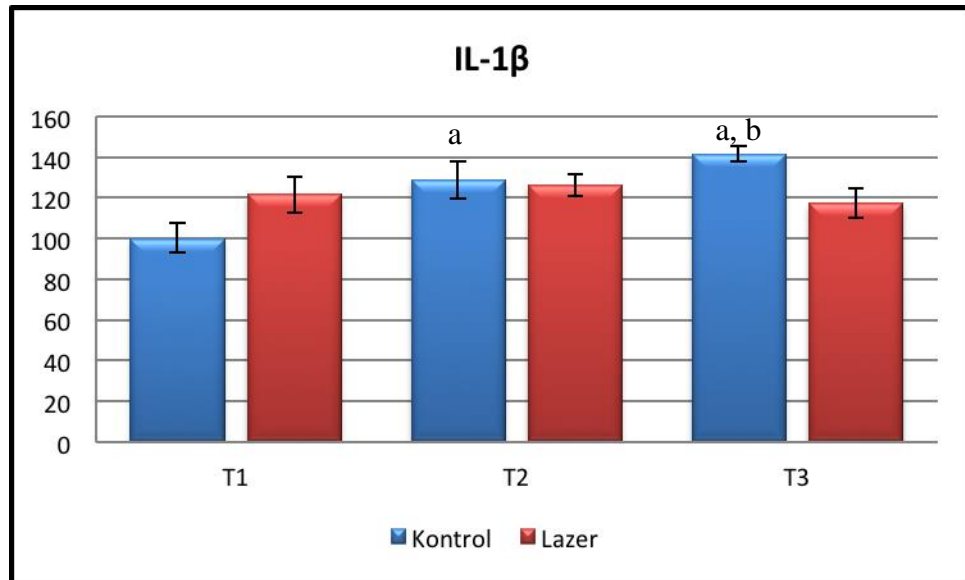
IL-1 β	Kontrol (n=3)	Lazer (n=3)	¹ p
	Ort \pm SS	Ort \pm SS	
T1	100 \pm 7,34	121,53 \pm 9,13	0,050*
T2	128,96 \pm 9,08	126,45 \pm 5,39	0,050*
T3	141,53 \pm 3,66	117,28 \pm 7,26	0,050*
² p	0,027*	0,329	
T1-T2 ³ p	0,050*	0,513	
T1-T3 ³ p	0,050*	0,513	
T2-T3 ³ p	0,050*	0,127	

¹ Mann Whitney U test

² Kruskal Wallis Test

³ Mann Whitney U Test

*p \leq 0.05



^a T1'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, (p<0,05).

^b T2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, (p<0,05).

Şekil 4.1. Lazer ve kontrol gruplarının IL-1 β seviyeleri.

Lazer grubunun T1 zamanındaki IL-1 β düzeyleri, Kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Lazer grubunun T2 ve T3 zamanlarındaki IL-1 β düzeyleri, Kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p \leq 0.05$).

Kontrol grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki IL-1 β düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p \leq 0.05$). T3 zamanındaki IL-1 β düzeyi, T1 ($p:0.050$; $p \leq 0.05$) ve T2 ($p:0.050$; $p \leq 0.05$) zamanlarındaki IL-1 β düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. T2 zamanındaki IL-1 β düzeyi, T1 ($p:0.050$; $p \leq 0.05$) zamanlarındaki IL-1 β düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir.

Lazer grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki IL-1 β düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

Tablo 4.2: IL-6 değerlendirilmesi.

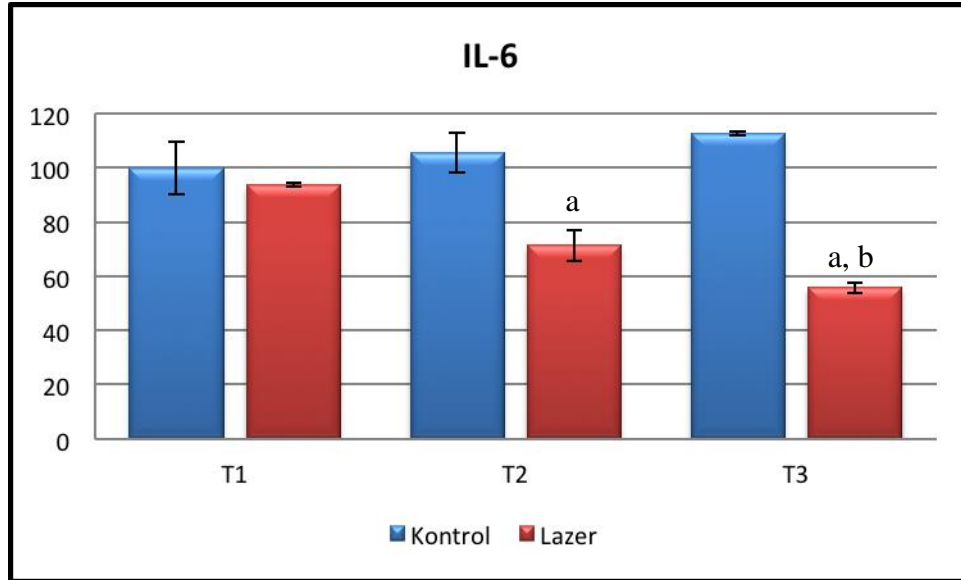
IL-6	Kontrol (n=3)	Lazer (n=3)	¹ p
	Ort \pm SS	Ort \pm SS	
T1	100 \pm 9,68	93,55 \pm 0,69	0,513
T2	105,55 \pm 7,3	71,28 \pm 5,67	0,050*
T3	112,53 \pm 0,72	55,77 \pm 1,8	0,050*
² p	0,099	0,027*	
T1-T2 ³ p	0,513	0,050*	
T1-T3 ³ p	0,060	0,050*	
T2-T3 ³ p	0,127	0,050*	

¹ Mann Whitney U test

² Kruskal Wallis Test

³ Mann Whitney U Test

* $p \leq 0.05$



^a T1'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ($p < 0,05$).

^b T2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ($p < 0,05$).

Şekil 4.2. Lazer ve kontrol gruplarının IL-6 seviyeleri.

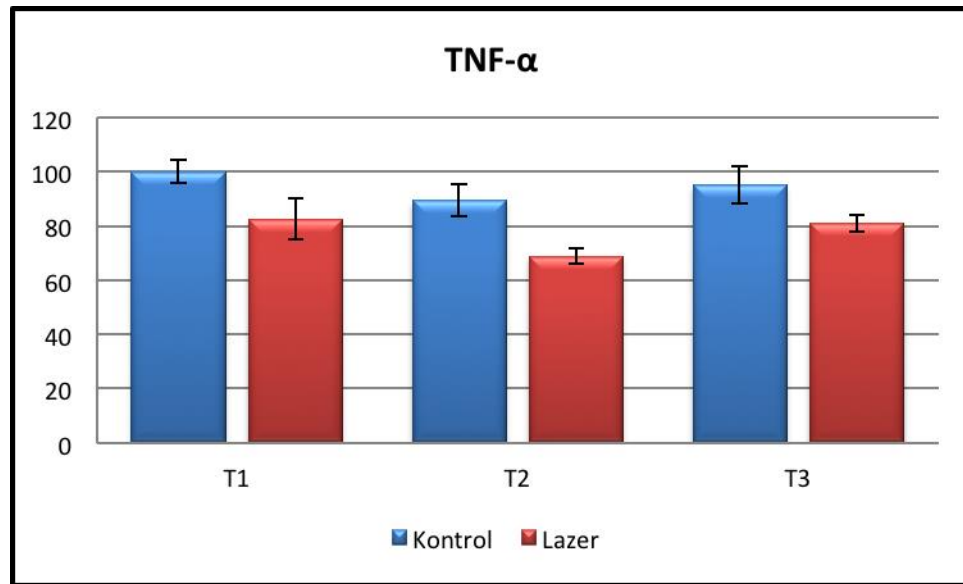
Lazer ve kontrol gruplarının T1 zamanındaki IL-6 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p > 0,05$); Lazer grubunun T2 ve T3 zamanlarındaki IL-6 düzeyleri, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p \leq 0,05$).

Kontrol grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki IL-6 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0,05$).

Lazer grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki IL-6 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p \leq 0,05$). T1 zamanındaki IL-6 düzeyi, T2 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) ve T3 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) zamanlarındaki IL-6 düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. T2 zamanındaki IL-6 düzeyi, T3 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) zamanındaki IL-6 düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir.

Tablo 4.3: TNF- α değeri değerlendirilmesi.

TNF- α	Kontrol (n=3)	Lazer (n=3)	¹ p
	Ort \pm SS	Ort \pm SS	
T1	100 \pm 4,19	82,61 \pm 7,76	0,050*
T2	89,39 \pm 6,02	68,76 \pm 2,79	0,050*
T3	94,94 \pm 6,86	81,16 \pm 3,07	0,050*
² p	0,177	0,061	
T1-T2 ³ p	0,127	0,050*	
T1-T3 ³ p	0,513	0,513	
T2-T3 ³ p	0,127	0,050*	

¹ Mann Whitney U test² Kruskal Wallis Test³ Mann Whitney U Test* $p \leq 0.05$ Şekil 4.3. Lazer ve kontrol gruplarının TNF- α seviyeleri.

Lazer grubunun T1, T2 ve T3 zamanlarındaki TNF- α düzeyleri, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p \leq 0.05$).

Kontrol grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki TNF- α düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

Lazer grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki TNF- α düzeyleri arasında anlamlılığa yakın olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$). Üç zaman arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, yapılan ikili karşılaştırmalarda T2 zamanındaki TNF- α düzeyi, T1 ($p:0.050$; $p \leq 0.05$) ve T3 ($p:0.050$; $p \leq 0.05$) zamanlarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.

Tablo 4.4: MMP-8 değerlendirilmesi.

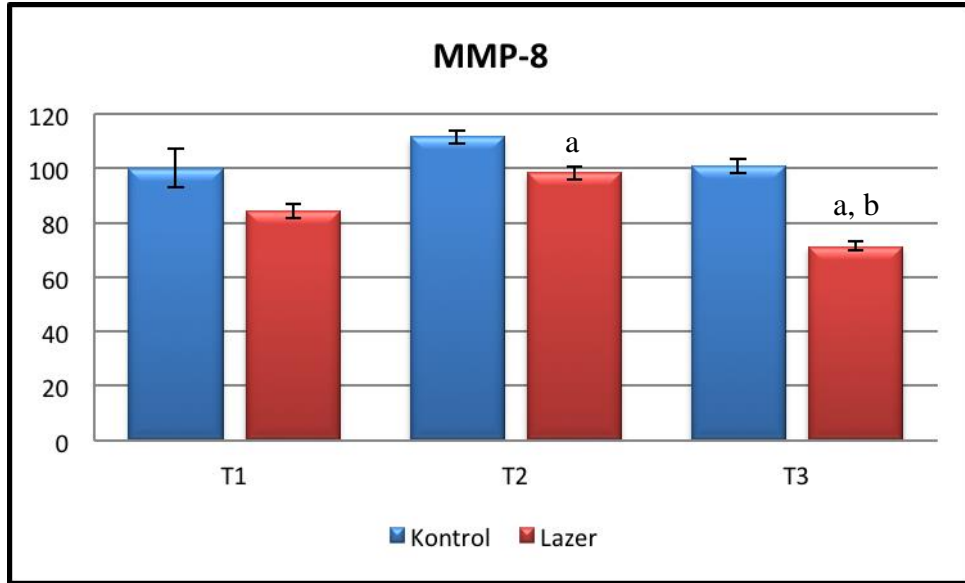
MMP8	Kontrol (n=3)	Lazer (n=3)	¹ p
	Ort \pm SS	Ort \pm SS	
T1	100 \pm 7,08	84,32 \pm 2,56	0,050*
T2	111,6 \pm 2,47	98,28 \pm 2,4	0,050*
T3	100,88 \pm 2,5	71,27 \pm 1,75	0,050*
² p	0,066	0,027*	
T1-T2 ³ p	0,050*	0,050*	
T1-T3 ³ p	0,827	0,050*	
T2-T3 ³ p	0,050*	0,050*	

¹ Mann Whitney U test

² Kruskal Wallis Test

³ Mann Whitney U Test

* $p \leq 0.05$



^a T1'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ($p < 0,05$).

^b T2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ($p < 0,05$).

Şekil 4.4. Lazer ve kontrol gruplarının MMP-8 seviyeleri.

Lazer grubunun T1, T2 ve T3 zamanlarındaki MMP-8 düzeyleri, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p \leq 0,05$).

Kontrol grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki MMP-8 arasında anlamlılığa yakın olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0,05$). Üç zaman arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, yapılan ikili karşılaştırmalarda T2 zamanındaki MMP-8 düzeyi, T1 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) ve T3 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) zamanlarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

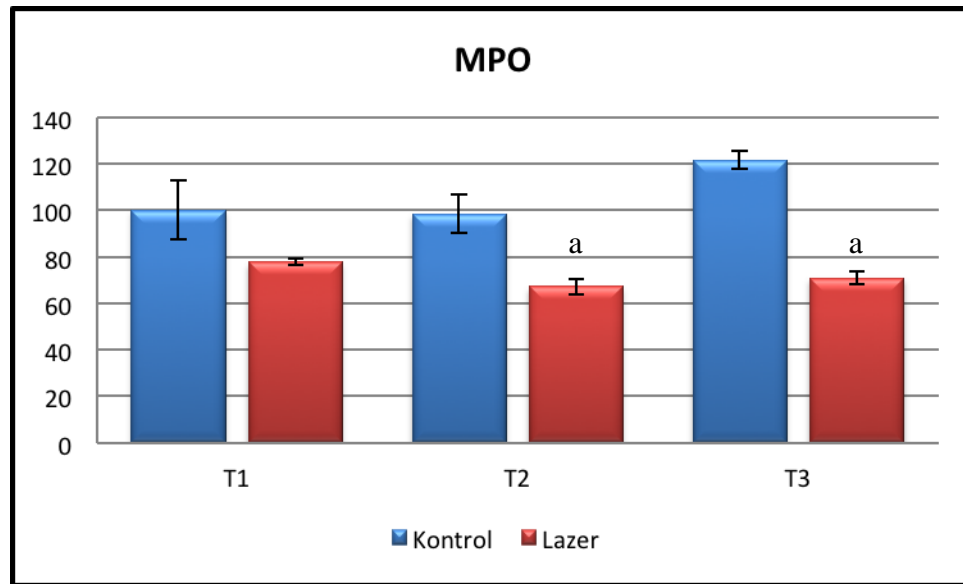
Lazer grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki MMP-8 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p \leq 0,05$). T2 zamanındaki MMP-8 düzeyi, T1 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) ve T3 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) zamanlarındaki MMP-8 düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. T1 zamanındaki MMP-8 düzeyi, T3 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) zamanlarındaki MMP-8 düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir.

Tablo 4.5: MPO değeri değerlendirilmesi.

MPO	Kontrol (n=3)	Lazer (n=3)	¹ p
	Ort±SS	Ort±SS	
T1	100±12,74	77,85±1,51	0,050*
T2	98,52±8,27	67,22±3,18	0,050*
T3	121,78±3,73	70,89±2,73	0,050*
² p	0,061	0,049*	
T1-T2 ³ p	0,513	0,050*	
T1-T3 ³ p	0,050*	0,050*	
T2-T3 ³ p	0,050*	0,275	

¹ Mann Whitney U test² Kruskal Wallis Test³ Mann Whitney U Test

* p≤0.05

^a T1'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, (p<0,05).

Şekil 4.5. Lazer ve kontrol gruplarının MPO seviyeleri.

Lazer grubunun T1, T2 ve T3 zamanlarındaki MPO düzeyleri, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p \leq 0.05$).

Kontrol grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki MPO arasında anlamlılığa yakın olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$). Üç zaman arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, yapılan ikili karşılaştırmalarda T3 zamanındaki MPO düzeyi, T1 ($p:0.050$; $p \leq 0.05$) ve T2 ($p:0.050$; $p \leq 0.05$) zamanlarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Lazer grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki MPO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p \leq 0.05$). T1 zamanındaki MPO düzeyi, T2 ($p:0.050$; $p \leq 0.05$) ve T3 ($p:0.050$; $p \leq 0.05$) zamanlarındaki MPO düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. T2 ve T3 zamanlarındaki MPO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.275$; $p > 0.05$).

Tablo 4.6: RANK değerlendirilmesi.

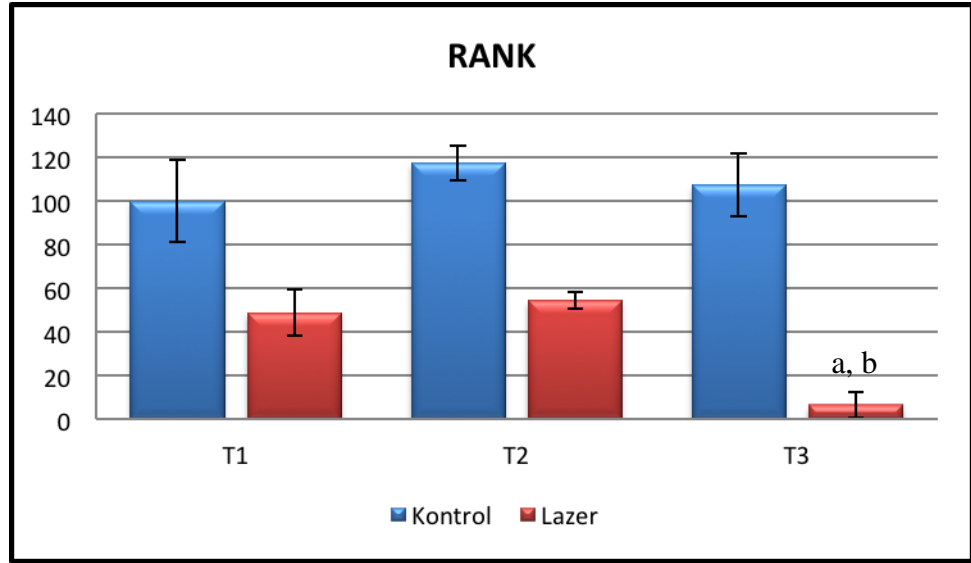
RANK	Kontrol (n=3)	Lazer (n=3)	¹ p
	Ort±SS	Ort±SS	
T1	100±18,76	48,79±10,55	0,050*
T2	117,53±8	54,34±3,88	0,050*
T3	107,25±14,58	6,75±5,86	0,050*
² p	0,329	0,041*	
T1-T2 ³ p	0,127	0,513	
T1-T3 ³ p	0,513	0,050*	
T2-T3 ³ p	0,513	0,050*	

¹ Mann Whitney U test

² Kruskal Wallis Test

³ Mann Whitney U Test

* $p \leq 0.05$



^a T1'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ($p < 0,05$).

^b T2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ($p < 0,05$).

Şekil 4.6. Lazer ve kontrol gruplarının RANK seviyeleri.

Lazer grubunun T1, T2 ve T3 zamanlarındaki RANK düzeyleri, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p \leq 0,05$).

Kontrol grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki RANK düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0,05$).

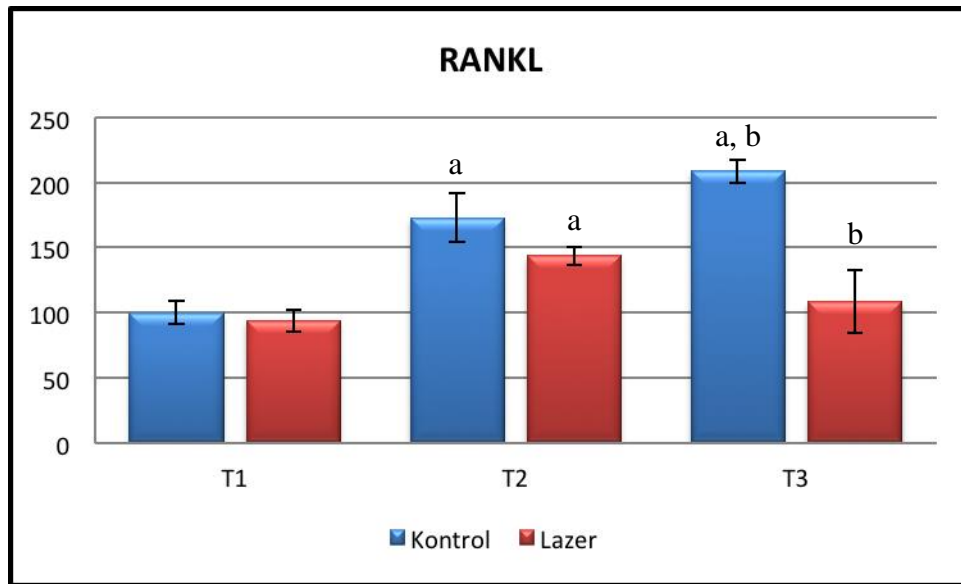
Lazer grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki RANK düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p \leq 0,05$). T3 zamanındaki RANK düzeyi, T1 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) ve T2 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) zamanlarındaki RANK düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktür. T1 ve T2 zamanlarındaki RANK düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.513$; $p > 0,05$).

Tablo 4.7: RANKL değerlendirilmesi.

RANK L	Kontrol (n=3)	Lazer (n=3)	¹ p
	Ort±SS	Ort±SS	
T1	100±8,96	93,93±8,39	0,275
T2	173,13±18,52	143,72±7	0,050*
T3	208,67±9,1	108,22±24,16	0,046*
² p	0,027*	0,050*	
T1-T2 ³ p	0,050*	0,050*	
T1-T3 ³ p	0,050*	0,268	
T2-T3 ³ p	0,050*	0,046*	

¹ Mann Whitney U test² Kruskal Wallis Test³ Mann Whitney U Test

* p≤0.05

^a T1'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, (p<0,05).^b T2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, (p<0,05).**Şekil 4.7.** Lazer ve kontrol gruplarının RANKL seviyeleri.

Lazer ve kontrol gruplarının T1 zamanındaki RANKL düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p>0.05$); Lazer grubunun T2 ve T3 zamanlarındaki RANKL düzeyleri, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p\leq 0.05$).

Kontrol grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki RANKL düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p\leq 0.05$). T1 zamanındaki RANKL düzeyi, T2 ($p:0.050$; $p\leq 0.05$) ve T3 ($p:0.050$; $p\leq 0.05$) zamanlarındaki RANKL düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktür. T2 zamanındaki RANKL düzeyi, T3 ($p:0.050$; $p\leq 0.05$) zamanındaki RANKL düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktür.

Lazer grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki RANKL düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p\leq 0.05$). T2 zamanındaki RANKL düzeyi, T1 ($p:0.050$; $p\leq 0.05$) ve T3 ($p:0.050$; $p\leq 0.05$) zamanlarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. T1 ve T3 zamanlarındaki RANKL düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.268$; $p>0.05$).

Tablo 4.8: OPG değerlendirilmesi.

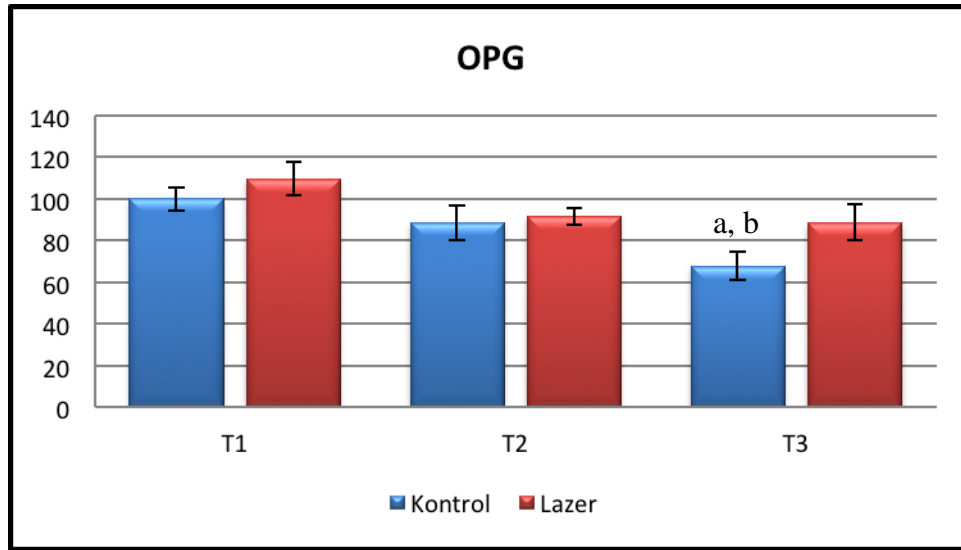
OPG	Kontrol (n=3)	Lazer (n=3)	¹ p
	Ort±SS	Ort±SS	
T1	100±5,65	109,67±8,13	0,127
T2	88,63±8,21	91,76±3,88	0,827
T3	67,81±6,82	88,55±8,66	0,049*
² p	0,039*	0,061	
<i>T1-T2</i> ³ p	0,127	0,050*	
<i>T1-T3</i> ³ p	0,050*	0,050*	
<i>T2-T3</i> ³ p	0,050*	0,513	

¹ Mann Whitney U test

² Kruskal Wallis Test

³ Mann Whitney U Test

* $p\leq 0.05$



^a T1'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ($p < 0,05$).

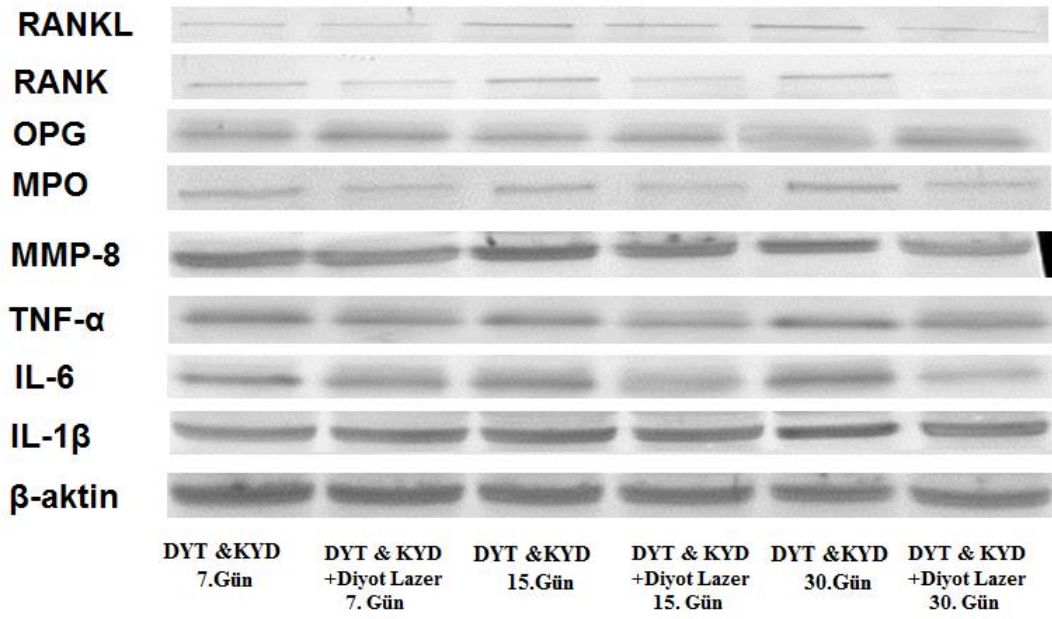
^b T2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ($p < 0,05$).

Şekil 4.8. Lazer ve kontrol gruplarının OPG seviyeleri.

Kontrol ve lazer gruplarının T1 ve T2 zamanlarındaki OPG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p > 0,05$); Lazer grubunun T3 zamanındaki OPG düzeyi, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,05$).

Kontrol grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki OPG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p \leq 0,05$). T3 zamanındaki OPG düzeyi, T1 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) ve T2 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) zamanlarındaki OPG düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktür. T1 ve T2 zamanlarındaki OPG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.127$; $p > 0,05$).

Lazer grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki OPG düzeyleri arasında anlamlılığa yakın olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0,05$). Üç zaman arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, yapılan ikili karşılaştırmalarda T1 zamanındaki OPG düzeyi, T2 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) ve T3 ($p:0.050$; $p \leq 0,05$) zamanlarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.



Şekil 4.9. Jel Elektroferezde Yürütülen Proteinlerin Oluşturduğu Bantlar.

4.2. Histopatolojik Bulgular

Tablo 4.9: EHİ değerlendirilmesi.

EHİ	Kontrol (n=10)		Lazer (n=10)		¹ p
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
T1	2,6±0,52	1,9±0,74	1,9±0,74	1,9±0,74	0,032*
T2	1,8±0,63	0,9±0,74	0,9±0,74	0,9±0,74	0,013*
T3	1,4±0,7	0,4±0,52	0,4±0,52	0,4±0,52	0,005**
² p	0,002**		0,001**		
T1-T2 ³ p	0,011*		0,012*		
T1-T3 ³ p	0,001**		0,001**		
T2-T3 ³ p	0,235		0,112		

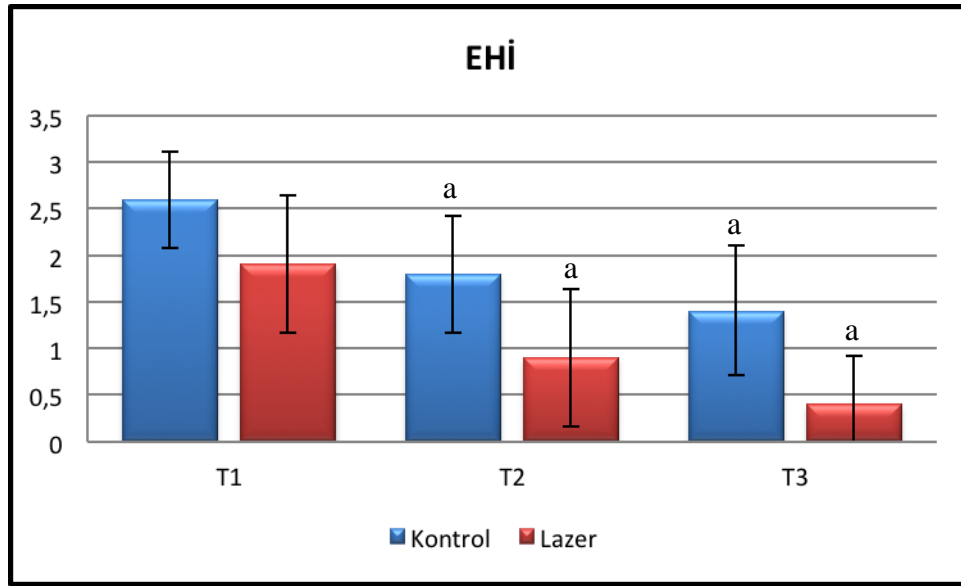
¹ Mann Whitney U test

² Kruskal Wallis Test

³ Mann Whitney U Test

* $p \leq 0.05$

** $p \leq 0.01$



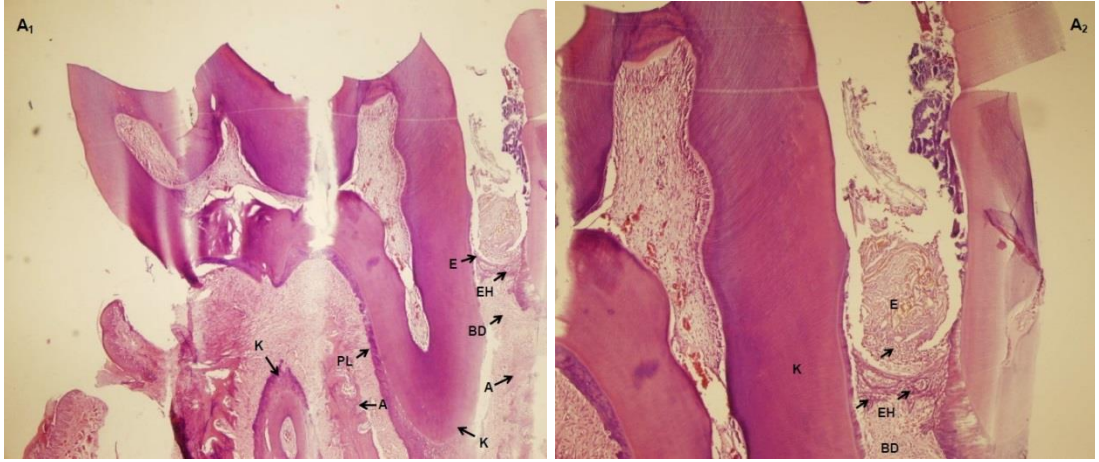
^a T1'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ($p < 0,05$).

Şekil 4.10. Lazer ve kontrol gruplarının EHİ seviyeleri.

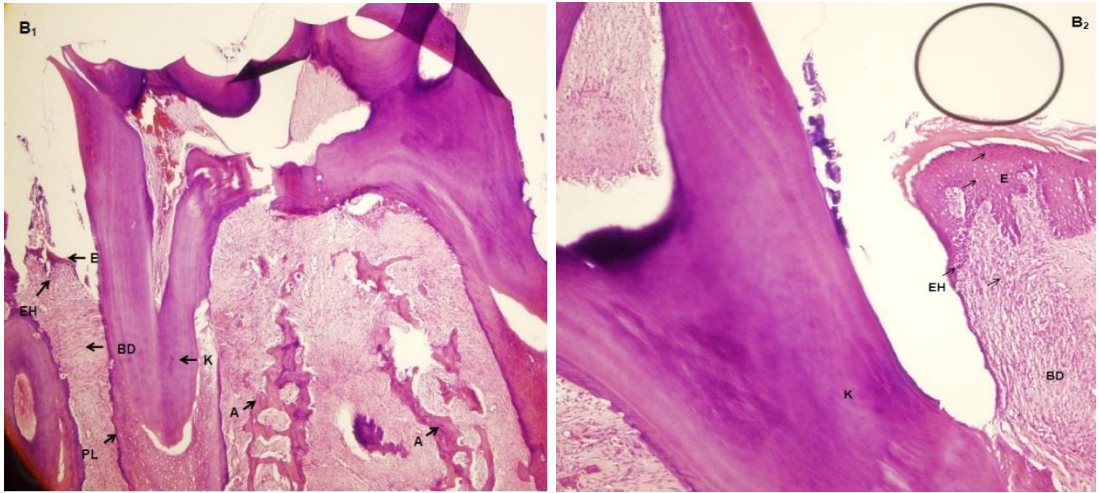
Lazer grubunun T1, T2 ve T3 zamanlarındaki EHİ düzeyleri, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$).

Kontrol grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki EHİ düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p \leq 0,01$). T1 zamanındaki EHİ düzeyi, T2 ($p:0,011$; $p \leq 0,05$) ve T3 ($p:0,001$; $p \leq 0,01$) zamanlarındaki EHİ düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. T2 ve T3 zamanlarındaki EHİ düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0,235$; $p > 0,05$).

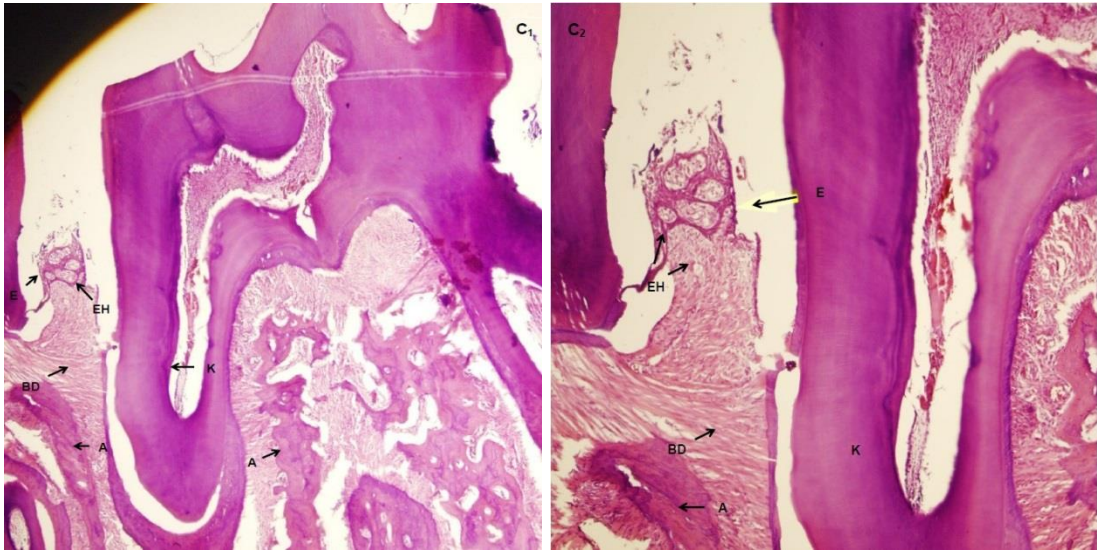
Lazer grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki EHİ düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p \leq 0,01$). T1 zamanındaki EHİ düzeyi, T2 ($p:0,012$; $p \leq 0,05$) ve T3 ($p:0,001$; $p \leq 0,01$) zamanlarındaki EHİ düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. T2 ve T3 zamanlarındaki EHİ düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0,112$; $p > 0,05$).



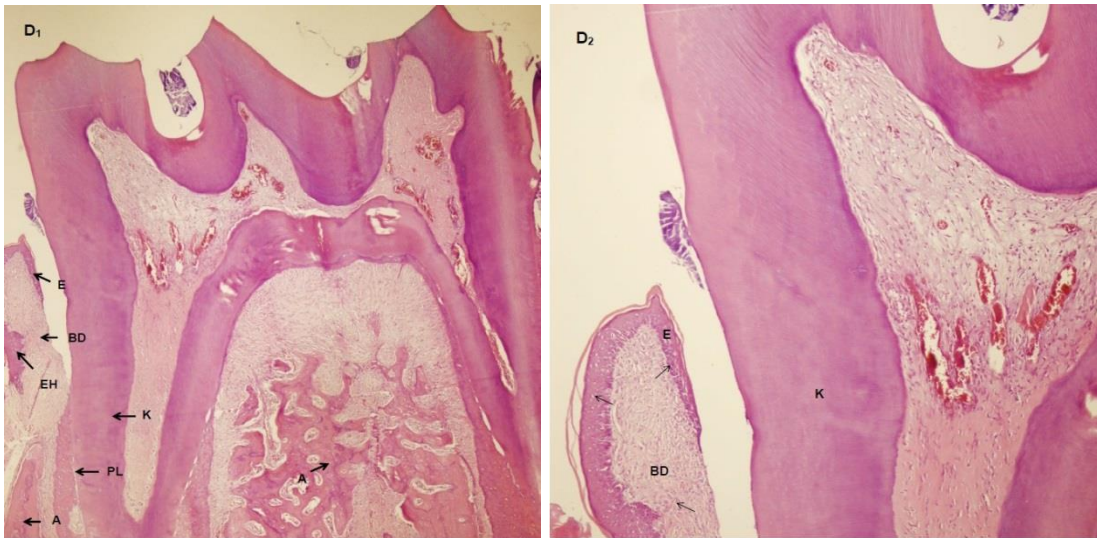
Şekil 4.11. DYT & KYD uygulaması yapıldıktan 7 gün sonraki histopatolojik görünüm; (A1: H&E X 40, A2: H&E X 100), oklar; BD; Bağ dokusu, E; Epitel dokusu, PL; Periodontal ligament, K; Diş kökü, EH; Enflamatuvar hücre, A; Alveoler kemik.



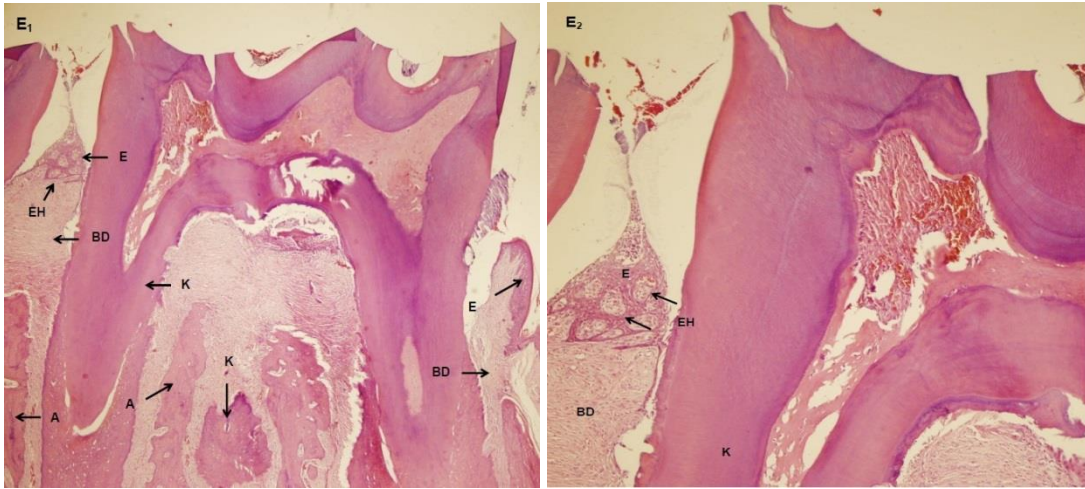
Şekil 4.12. DYT & KYD'ye ilave diyot lazer uygulaması yapıldıktan 7 gün sonraki histopatolojik görünüm; (B1: H&E X 40, B2: H&E X 100), oklar; BD; Bağ dokusu, E; Epitel dokusu, PL; Periodontal ligament, K; Diş kökü, EH; Enflamatuvar hücre, A; Alveoler kemik.



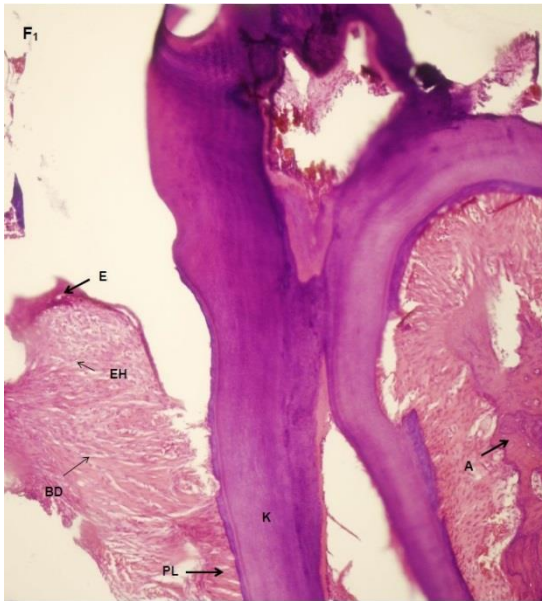
Şekil 4.13. DYT & KYD uygulaması yapıldıktan 15 gün sonraki histopatolojik görünüm; (C1: H&E X 40, C2: H&E X 100), BD; Bağ dokusu, E; Epitel dokusu, K; Diş kökü, EH; Enflamatuvar hücre, A; Alveoler kemik.



Şekil 4.14. DYT & KYD'ye ilave diyet lazer uygulaması yapıldıktan 15 gün sonraki histopatolojik görünüm; (D1: H&E X 40, D2: H&E X 100), oklar; BD; Bağ dokusu, E; Epitel dokusu, PL; Periodontal ligament, K; Diş kökü, EH; Enflamatuvar hücre, A; Alveoler kemik.



Şekil 4.15. DYT & KYD uygulaması yapıldıktan 30 gün sonraki histopatolojik görünüm; (E1: H&E X 40, E2: H&E X 100), BD; Bağ dokusu, E; Epitel dokusu, K; Diş kökü, EH; Enflamatuvar hücre, A; Alveoler kemik.



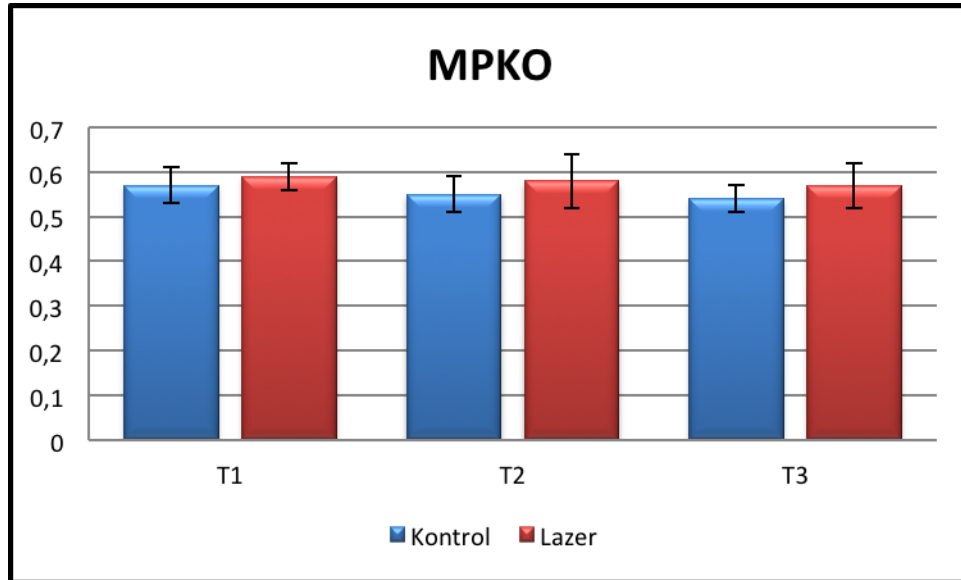
Şekil 4.16. DYT & KYD'ye ilave diyet lazer uygulaması yapıldıktan 30 gün sonraki histopatolojik görünüm; (F1: H&E X 100), oklar; BD; Bağ dokusu, E; Epitel dokusu, PL; Periodontal ligament, K; Diş kökü, EH; Enflamatuvar hücre, A; Alveoler kemik.

4.3. Radyografik Bulgular

Tablo 4.10: MPKO değerlendirilmesi.

MPKO	Kontrol (n=10)	Lazer (n=10)	¹ p
	Ort±SS	Ort±SS	
T1	0,57±0,04	0,59±0,03	0,142
T2	0,55±0,04	0,58±0,06	0,288
T3	0,54±0,03	0,57±0,05	0,184
² p	0,342	0,487	
<i>T1-T2</i> ³ p	0,538	0,674	
<i>T1-T3</i> ³ p	0,337	0,477	
<i>T2-T3</i> ³ p	0,930	0,944	

¹ Student t test ² Oneway ANOVA Test ³ Tukey HSD Test



Şekil 4.17. Lazer ve kontrol gruplarının MPKO ortalamaları.

Kontrol ve lazer gruplarının T1, T2 ve T3 zamanlarındaki MPKO ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

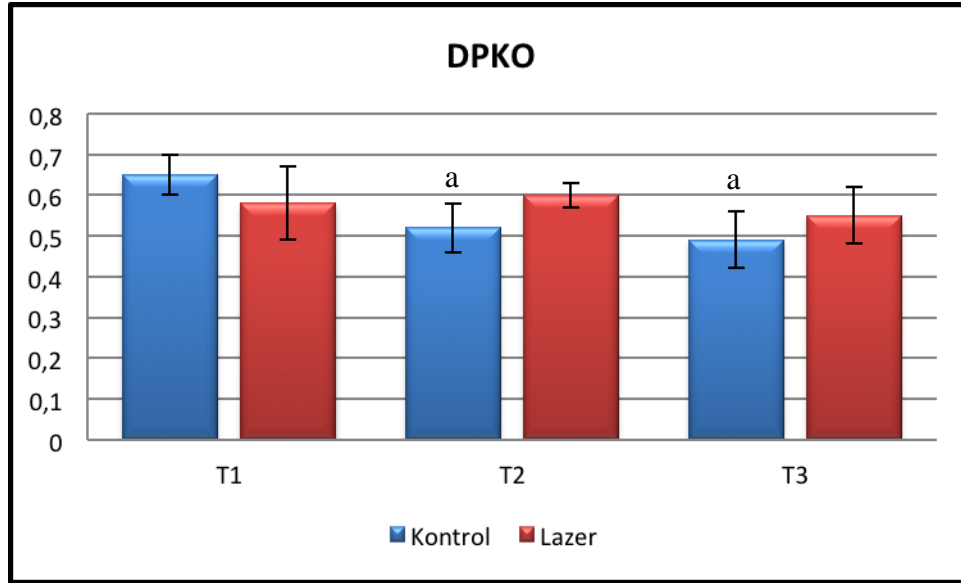
Kontrol grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki MPKO ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Lazer grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki MPKO ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Tablo 4.11: DPKO değerlendirilmesi.

DPKO	Kontrol (n=10)	Lazer (n=10)	¹ p
	Ort±SS	Ort±SS	
T1	0,65±0,05	0,58±0,09	0,062
T2	0,52±0,06	0,60±0,03	0,003**
T3	0,49±0,07	0,55±0,07	0,056
² p	0,001**	0,293	
<i>T1-T2</i> ³ p	0,001**	0,859	
<i>T1-T3</i> ³ p	0,001**	0,553	
<i>T2-T3</i> ³ p	0,495	0,273	

¹ Student t test ² Oneway ANOVA Test ³ Tukey HSD Test ** $p\leq 0.01$



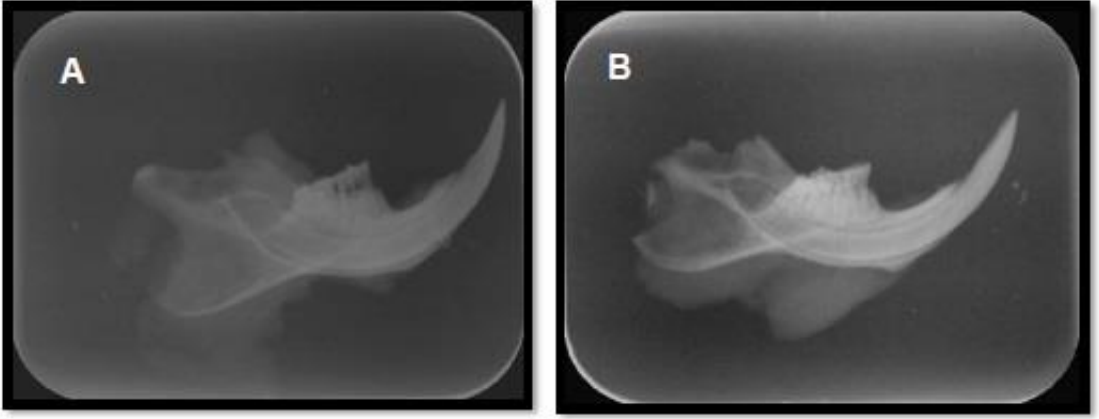
^a T1'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık, ($p < 0,05$).

Şekil 4.18. Lazer ve kontrol gruplarının DPKO ortalamaları.

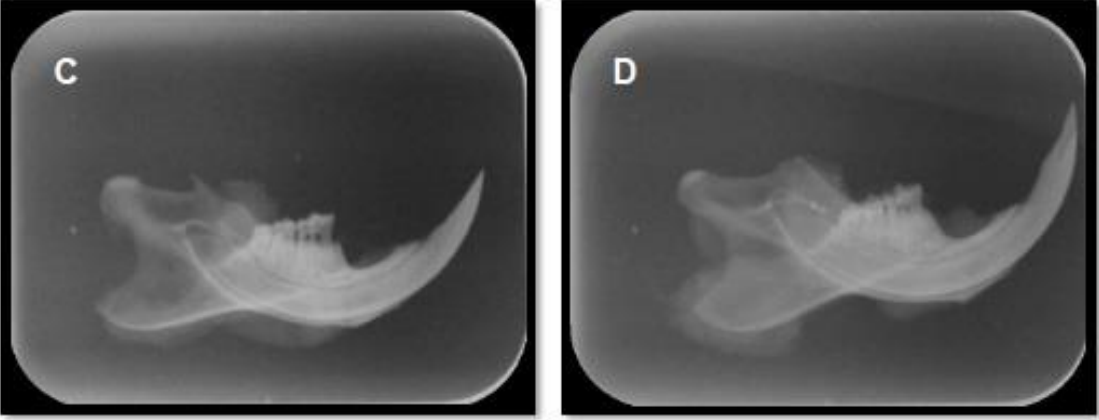
Kontrol ve lazer gruplarının T1 ve T3 zamanlarındaki DPKO ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p > 0,05$); Lazer grubunun T2 zamanındaki DPKO ortalaması, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,01$).

Kontrol grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki DPKO ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p \leq 0,01$). T1 zamanındaki DPKO ortalaması, T2 ($p:0,001$; $p \leq 0,01$) ve T3 ($p:0,001$; $p \leq 0,01$) zamanlarındaki DPKO ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. T2 ve T3 zamanlarındaki DPKO ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0,495$; $p > 0,05$).

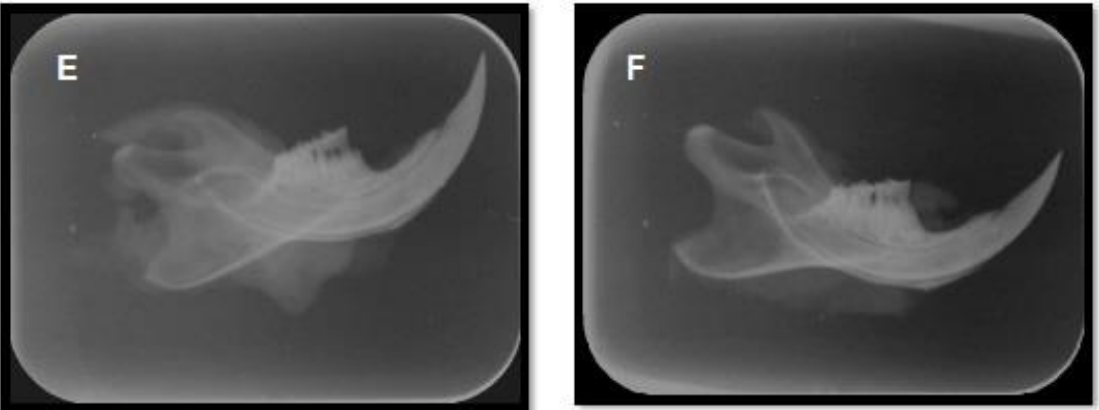
Lazer grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki DPKO ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0,05$).



Şekil 4.19. Gruplara ait alt çenelerin 7. günde sakrifikasyon işleminden hemen sonra alınmış radyografi görüntüleri; A: Kontrol Grubu, B; Lazer Gubu.



Şekil 4.20. Gruplara ait alt çenelerin 15. günde sakrifikasyon işleminden hemen sonra alınmış radyografi görüntüleri; C: Kontrol Grubu, D; Lazer Gubu.



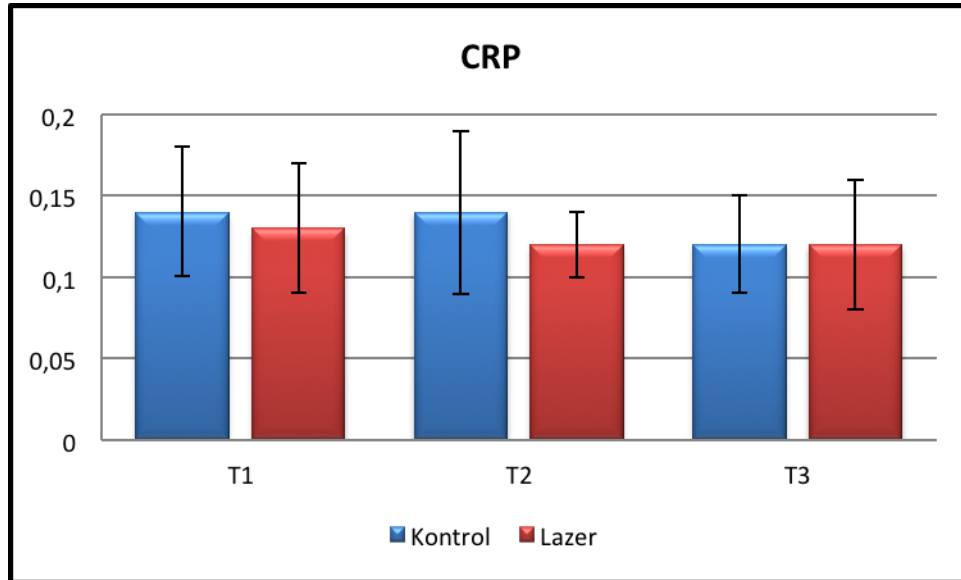
Şekil 4.21. Gruplara ait alt çenelerin 30. günde sakrifikasyon işleminden hemen sonra alınmış radyografi görüntüleri; E: Kontrol Grubu, F; Lazer Gubu.

4.4. Biyokimyasal Bulgular

Tablo 4.12: CRP değerlendirilmesi.

CRP (mg/dl)	Kontrol (n=10)	Lazer (n=10)	¹ p
	Ort±SS	Ort±SS	
T1	0,14±0,04	0,13±0,04	0,189
T2	0,14±0,05	0,12±0,02	0,487
T3	0,12±0,03	0,12±0,04	0,872
² p	0,289	0,873	
<i>T1-T2</i> ³ p	1,000	0,692	
<i>T1-T3</i> ³ p	0,122	0,904	
<i>T2-T3</i> ³ p	0,241	0,634	

¹ Mann Whitney U test ² Kruskal Wallis Test ³ Mann Whitney U Test



Şekil 4.22. Lazer ve kontrol gruplarının CRP seviyeleri.

Kontrol ve lazer gruplarının T1, T2 ve T3 zamanlarındaki CRP düzeyler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Kontrol grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki CRP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Lazer grubunda; T1, T2 ve T3 zamanlarındaki CRP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

Bu çalışma deneysel periodontitis oluşturulan ratlarda DYT & KYD'ye ilaveten uygulanan diyet lazer uygulamasının alveoler kemik kaybına, enflamasyona, periodontal hastalığın sistemik belirtilerini gösteren serum CRP düzeyine ve IL-1 β , IL-6, TNF- α , MMP-8, MPO, RANK, RANKL ve OPG gibi dişetinde hastalığın lokal bulgularını gösteren belirteçlere etkilerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonunda diyet lazerin periodontal dokulardaki enflamasyonu azalttığı görülürken oksidatif strese, periodontal doku yıkımı ve yapımı süreçlerine olumlu katkılar yaptığı bulunmuştur. Buna karşın diyet lazer uygulamasının alveoler kemik kaybına ve periodontitisin sebep olduğu enflamasyonun sistemik bulgularının azaltılmasına kısa dönemde anlamlı bir katkı sağlamadığı görülmüştür.

Periodontal hastalıklarla ilgili yapılan klinik araştırmalarda, bireyin hastalığın ilerleyişine yatkınlığı, hastalık aktivitesinin düzeyi ve risk faktörleri gibi bireysel farklılıklardan dolayı çalışma sonuçlarında çelişkiler yaşanabilmektedir (179). Bu durum araştırmacıları deneysel çalışmalara yöneltmiştir. Hayvan modelleri periodontal hastalığın patogenezinin ve tedavi yöntemlerinin araştırılmasında değerli bilgiler sunmaktadırlar. Literatürdeki periodontal hastalıklar ve tedavilerine yönelik yapılan deneysel çalışmalar incelendiğinde en çok maymun, köpek, rat, tavşan ve domuz modellerinin kullanıldığı görülmektedir (179, 180). Kullanılan her modelin kendine özgü avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Maymun ve köpeklerin anatomilerinin ve periodontal hastalık modelinin insandakine olan benzerliğinin yanında bakımları, satın alınmaları, nakliyat, uzun dönem barınmalarının maliyetinin yüksek oluşu ve güçlü etik sorunlar önemli bir kısıtlama getirmektedir (179, 181). Ratların immünolojik ve mikrobiyolojik özelliklerinin yanında, periodontal kollajen fibrilleri, hücreli-hücretsiz sementi, alveoler kemiği, oral gingival epitel, oral sulkuler epitel, bağlantı epiteli ve bağ dokusunun histolojik özellikleri insan periodontal dokuları ile benzerlik göstermektedir. İnsandakilerin aksine gingival sulkus epiteli ratlarda keratinizedir (182). Bu yapısal farklılığa rağmen bağlantı epitelinin

bakteriyel ürünlere, yabancı maddelere veya enflamatuvar eksüdasyonlara bir geçiş yolu teşkil ettiği görülmektedir (179, 181, 183). Bu özelliklerinden dolayı birçok deneysel periodontitis çalışmasında olduğu gibi biz de hayvan modeli olarak ratları seçtik (184-187).

Normalde periodontal hastalığa dirençli olan ratlarda, bakteri aşılması, cerrahi defekt oluşturulması, karbonhidrattan zengin diyetle beslemekle veya dişler etrafına ligatür bağlanması gibi yöntemler ile periodontitis oluşturulabilmektedir. Molar dişlere ligatür bağlanarak oluşturulan deneysel periodontitis modeli doğal plak oluşumuna en yakın model olduğundan birçok çalışmada sıklıkla kullanılmıştır (173, 184, 187-190). Alveoler kemiğin yıkım hızının ligatür bağlandıktan sonraki 7-11. günlerde en fazla görüldüğü daha sonra azalarak devam ettiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (187, 190, 191). Bu çalışmada alt molar dişler etrafına ligatür bağlandıktan 11 gün sonra ligatürler alınmıştır ve DYT & KYD ve diyet lazer uygulamalarını takiben 7., 15. ve 30. günlerde ratlar kurban edilerek değerlendirilmeye alınmıştır. Ratların kurban zamanı literatür ile uyumlu olacak şekilde gerçekleştirilmiştir (184, 188).

Bakteriyel dental plağın esas etyolojik faktör olduğu periodontal hastalıkların tedavisinde günümüze kadar birçok tedavi seçeneği uygulanmıştır. Bu tedavilerin asıl amacı diş taşı ve dental plağı uzaklaştırarak biyolojik bağlantının tekrar sağlanması için düzgün bir kök yüzeyi elde etmektir. DYT & KYD işlemi, cerrahi olmayan periodontal tedavide altın standart kabul edilmektedir ve günümüze kadar başarıyla kullanım alanı bulmuştur. Ancak furkasyon bölgeleri, konkaviteler ve derin ceplerin varlığında DYT & KYD tek başına etkili olamamaktadır. Bu yüzden DYT & KYD'ye ilave tedavi yöntemleri geliştirilmiş veya cerrahi müdahalelere başvurulmuştur (161, 162, 192).

Porphyromonas gingivalis ve *A. actinomycetemcomitans* gibi bakterilerin dokulara invaze olabileme özelliklerinden dolayı DYT & KYD tek başına etkili olamayabilmektedir. Özellikle derin cepler ve furkasyon tutulumu arttıkça DYT & KYD'nin etkinliği azalmaktadır. Bu gibi durumlarda dental plak ve diş taşlarının tamamen uzaklaştırılması imkansız bir hal almaktadır. Öyle ki DYT & KYD uygulanan kök yüzeylerindeki kalıntılar incelendiğinde, 4-6 mm cep derinliğine

sahip bölgelerdeki kalıntılar % 15-38 iken 6 mm ve üzeri cep derinliğine sahip bölgelerde % 19-66 olarak bulunmuştur (193, 194). Periodontal hastalığa neden olan mikroorganizmaların saptanması ve rollerinin belirlenmesiyle cerrahi olmayan periodontal tedaviyi destekleyici olarak antimikrobiyal ajanların kullanımı gündeme gelmiştir. Fakat antibiyotik kullanımında ilaç etkileşimleri, yan etkileri, fırsatçı ve dirençli mikroorganizma gelişme riskleri halen bir sorun olarak devam etmektedir. Periodontal hastalıklarda konak cevabı olarak IL-1, PGE₂ ve MMP'ler gibi birçok proenflamatuvar medyatör ve proteolitik enzim sentezlenmektedir. Bu enflamatuvar ve immün yanıtın, non-steroid anti-enflamatuvar ilaçlar ve bifosfonatlar, östrojen, kalsitonin gibi kemik yıkımını engelleyen ilaçlar ile değiştirilerek tedavisi düşünülmüştür. Ancak konak modülasyonu amacıyla kullanılan maddelerden istenilen klinik sonuçlar elde edilememiştir. Tüm bu sorunlar lazer sistemleri gibi yeni teknolojik gelişmeleri gündeme getirmiştir. CO₂, Nd:YAG, Er:YAG ve diyot lazerler gibi birçok lazer sistemi günümüz diş hekimliğinde oldukça yaygın kullanım alanları bulmaktadır (167). Diyot lazerler özelliklerinden dolayı genellikle yumuşak doku lazerleri olarak kullanılmaktadır. Periodontitisin tedavisinde diyot lazerlerin asıl tercih edilme sebebi geleneksel periodontal tedaviye ilave olarak uygulandıklarında göstermiş oldukları bakterisidal etkileridir. Literatürde, periodontal ceplerin dekontaminasyonunda ve bakteriyel yükün azaltılmasına yardımcı olarak kullanıldığında klinik parametrelerde iyileşme ve periodontopatojen bakteri sayısında azalma sağladığını gösteren çalışmalar mevcuttur (22, 23, 195-198). Periodontal hastalıkların ana etyolojik faktörü olan mikrobiyal dental plaktaki bakteriler, konakta immün yanıt başlatarak doku enflamasyonu meydana getirmektedirler. Özellikle immün cevapta nötrofiller, T hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar ve epitel hücreleri gibi birçok hücreden salınan ürünler periodontal sağlık ve hastalık sürecinin kontrolünde önemli rollere sahiptirler (63). Organizmada birçok biyolojik olayda önemli roller oynayan IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin, MMP-8, MPO, RANK ve RANKL seviyelerinin periodontal hastalıklı alanlarda arttığı ve periodontal tedavi sonrasında ise önemli düzeyde azaldığı çalışmalarda rapor edilmiştir (18, 102, 135, 199-201). Diğer taraftan OPG seviyesinin ise kemik yapımı ile ilişkili olduğu, hastalıklı bölgelerde seviyesi azaldığı ve tedavi sonrasında arttığı bildirilmiştir (151, 202, 203). Bu

çalışmada DYT & KYD'ye ek olarak uygulanan 810 nm dalga boyundaki ve diyet lazer tedavisinin periodontal iyileşmeye olan etkilerini inceledik. Sitokin seviyelerinin değerlendirilmesi için IL-1 β , IL-6 ve TNF- α , kollajen yıkımının değerlendirilmesi için MMP-8, oksidan seviyesindeki değerlendirme için MPO, kemik metabolizmasındaki değişimler için RANK, RANKL ve OPG incelendi. Klinik değişimlerin değerlendirilmesi ise radyografik olarak kemik seviyesi ölçülerek gerçekleştirildi. Ayrıca periodontal dokulardaki enflamasyonun değerlendirilmesi için EHI incelendi. Bu parametrelerin incelenmesi diyet lazerin periodontal dokulardaki yapım ve yıkım sürecinde rol oynayan birçok faktör hakkında önemli bilgiler sunacaktır.

Romanos ve ark. (23) domuzlarda periodontal cep epitelinin uzaklaştırılması için geleneksel yöntemler ile diyet lazeri karşılaştırmışlardır. Posterior dişlerin bukkal periodontal ceplerine geleneksel el aletleriyle küretaj yapılırken aynı dişlerin lingualdeki ceplerine ise iki farklı güçte (2 ve 4 W) diyet lazer (980 nm, 300 μ m fiber uçla 15 s, $1.96-3.93 \times 10^5$ W/cm²) uygulanmıştır. Dört W'lık güçte uygulandığında artan termal hasara bağlı nekroza benzer koagülasyonla beraber bağ dokusu hasarı gözlenmiştir. İki W'lık güçte uygulandığında ise termal hasar oluşturmadan el aletleriyle yapılan periodontal tedavinin aksine epitel kalıntıları bırakmadan cep epitelinin tamamen uzaklaştırıldığı görülmüştür. Antibakteriyel etkilerinin yanında yumuşak doku küretajı için diyet lazerlerin el aletlerine göre oldukça kullanışlı olduğu fakat sağlıklı dokulara zarar vermemek için gücünün iyi ayarlanması gerektiği de vurgulanmıştır. Fontana ve ark. (195) periodontal tedavide diyet lazer uygulamasının bakteriyel yük üzerine etkilerini incelemişlerdir. Toplam 40 rattan oluşan çalışmada molar dişlere sütur bağlayarak periodontitis oluşturulmuş ve 810 nm diyet lazer uygulaması 400 mW, 600 mW, 800 mW, 1 W ve 1,2 W güç olarak 5 farklı şekilde uygulanmıştır. Periodontal cep içerisine dairesel hareketle 9 s lazer uygulanmıştır. Çalışma sonucunda diyet lazer uygulaması ile *Streptococcus betahemolítico*, *Prevotella*, *Fusobacterium* ve *Pseudomonas* türleri gibi bakterilerinin uzaklaştırılmasında başarılı olduğu, bu nedenle de geleneksel tedaviye iyi bir alternatif olabileceği öne sürülmüştür. Borrajo ve ark. (204) periodontitisli hastalar üzerinde yaptıkları bir çalışmada DYT & KYD'ye ilave kullanılan diyet lazerin (980 nm, 2 W) klinik etkinliğini araştırmışlardır. Tedaviden

önce ve tedavi sonrası 6. haftada papil kanama indeksi, SK, KAS, SCD ve dişeti çekilmesi gibi klinik parametreler değerlendirilmiştir ve DYT & KYD'ye ek olarak diyet lazer kullanılmasının tek başına mekanik tedaviye kıyasla klinik olarak orta derecede bir gelişme sağladığı görülmüştür. Literatürde, periodontitisin tedavisinde diyet lazer uygulanmasının mikrobiyal ve klinik parametrelerde yararının olduğunu destekleyen araştırmaların yanında DYT & KYD ile beraber kullanılan diyet lazerin ek bir faydası olmadığını ileri süren araştırmacılar da bulunmaktadır. De Micheli ve ark. (197) kronik periodontitis hastalarında, cerrahisiz periodontal tedavinin diyet lazer ile desteklenmesini klinik ve bakteriyel yönden incelemiştir. Bir gruba sadece DYT & KYD uygulanırken diğer gruba DYT & KYD'ye ilave olarak 1. ve 7. günlerde diyet lazer tedavisi (808±5 nm, 1,5 W devamlı mod, 20s) uygulanmıştır. Kontrol grubunda KAS ve SCD sonuçlarının daha iyi olduğu görülürken, PI ve SK her iki grupta da benzer çıkmıştır. Plak örnekleri başlangıçta ve 6 hafta sonra değerlendirilmiş ve *P. gingivalis*, *P. intermedia* ve *A. actinomycetemcomitans* gibi bakterilerin her iki grupta da benzer oranlarda olduğu bulunarak diyet lazer uygulamasının geleneksel periodontal tedaviye ek bir fayda sağlamadığını öne sürmüşlerdir.

Assuma ve ark. (200) primatlarda oluşturdukları deneysel periodontitis modelinde yıkım alanlarına IL-1 ve TNF- α 'nın fonksiyonlarını engelleyen çözülebilir reseptörler enjekte etmişlerdir. IL-1 ve TNF- α inhibisyonunun sağlandığı alanlarda enjeksiyon uygulanmayan alanlara göre kemik kaybı (60%) ve osteoklast oluşumu (80%) anlamlı derecede azalma göstermiştir. Bu bulgular IL-1/TNF- α aktivasyonunun periodontitisin patolojik sürecinin çok önemli bir bileşeni olduğunu göstermektedir. Ayrıca benzer sonuçlar IL-6 için de rapor edilmiştir (98, 113). Bizim çalışmamızda lazer grubunda IL-1 β , IL-6 ve TNF- α seviyelerindeki azalmaların daha fazla olması, diyet lazerin periodontal doku yıkımının önlenmesinde ve tedavisinde etkili olabileceğini destekleyen bulgulardır. Üstün ve ark. (205) kronik periodontitisli hastaların tedavisinde DYT & KYD'ye ilave diyet lazer (810 nm) kullanmışlar ve 6 ayın sonunda sadece DYT & KYD uygulanan gruba göre IL-1 β seviyesinde anlamlı azalma bulmuşlardır. Bu çalışmanın aksine Giannopoulou ve ark. (196) periodontitisin tedavisinde ilave diyet lazer (810 nm, 1 W) kullandıkları çalışmalarında, TNF- α ve IL-1 β gibi sitokinlerdeki azalmanın anlamlı düzeyde

olmadığı rapor edilmiştir. Tüm bu araştırmalardan yola çıkarak periodontal hastalıkların tedavisinde diyet lazer kullanımının sitokinlere etkisini değerlendiren çok az sayıda çalışma olduğu görülmektedir.

IL-1 β seviyesinin çalışma sürecinde kontrol grubunda artış eğiliminde olduğu görülürken, lazer grubunda ise seviyesini koruduğu görüldü. Bu değişim sonucunda T3'de iki grup arasında önemli fark olduğu tespit edildi. IL-6 seviyesinin ise kontrol grubunda artış eğilimi gösterdiği, lazer grubunda ise seviyesinin azaldığı saptandı. TNF- α seviyesinin de T2 ve T3'de lazer grubunda daha az olduğu görüldü. Diyet lazer uygulamasının bakterisidal etkisinin yanında periodontal dokularda iyileşmeyi hızlandırdığı, enflamasyonu azalttığı ve bazı proenflamatuvar sitokinlerin gen ekspresyonunu inhibe ettiği bilinmektedir (206). Lazer grubunda kontrol grubuna göre proenflamatuvar sitokin seviyelerinin daha düşük olması diyet lazerin bu etkileri nedeniyle gerçekleşmiş olabilir. Diyet lazer uygulaması, mikrodolaşımdaki vazokonstriktör etkisinin yanında bakteriyel LPS'nin inaktivasyonuna ve vasküler endotel tabakadan ICAM-1 üretiminde azalmaya da neden olmaktadır (207). LPS inaktivasyonu ile ilişkili olarak endotel aktivasyonunda ve lökositlerin damar dışına çıkmasında azalma meydana gelerek enflamasyon azalmış ve bunun sonucunda proenflamatuvar sitokinlerin seviyelerinde azalma meydana gelmiş olabilir. Sonuçlarımız IL-1 β 'daki azalma bakımından Üstün ve ark.'nın (205) sonuçları ile uyumludur. Kontrol ve lazer gruplarında T2 ve T3 zamanlarında IL-1 β seviyesindeki azalma IL-6 seviyelerindeki azalmayla paralellik göstermektedir. Enflamatuvar süreçte IL-6 üretimine neden olan IL-1 seviyesinin uyguladığımız diyet lazer tedavisi sonrasında azalmasının IL-6 seviyesinin azalmasına etki edebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca IL-6 üretimini artıran TNF- α 'nın da seviyesinin azalmasının, IL-6 ve IL-1 β seviyelerinin azalmasına katkıda bulunabilir. Bu bulgular diyet lazer uygulamasının IL-1 β , IL-6 ve TNF- α seviyelerinin azalmasında önemli etkileri olabileceğini göstermektedir. Ayrıca bu sitokinlerin seviyelerindeki değişim incelendiğinde lazer grubunda zaman ilerledikçe seviyelerin azaldığı veya sabit kaldığı, diğer taraftan kontrol grubunda ise seviyelerde artış olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgu lazerin periodontal tedavi sonuçlarının uzun dönem korunmasında katkı sağlayabileceğini gösteren önemli kanıtlardır.

Tip 1 kollajen, alveoler kemik, dişeti ve periodontal ligamentin ana ekstraselüler matriksini oluşturmaktadır ve bu kollajenin yıkımı periodontitis gibi yıkıcı lezyonlarda önem kazanmaktadır. MMP-8, periodontal dokulardaki tip 1 ve 3 kollajenin yıkımından sorumlu esas kollajenaz olarak bilinmektedir (15, 129). Sağlam ve ark.'nın (208) DYT & KYD'ye ilave diyet lazer uygulamasının klinik ve biyokimyasal etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, MMP-1, MMP-8 ve TIMP-1 miktarlarının tüm gruplarda azaldığı görülmüştür. Tedavi sonrasında 1. ayda test grubunda klinik parametrelerle beraber MMP-8 seviyesinde anlamlı düzelmeler rapor edilmiştir. Çalışmamızda MMP-8 seviyesinin tüm zamanlarda lazer grubunda kontrol grubuna göre daha az olduğu görüldü. Bu durum diyet lazer uygulamasının enflamasyonu azaltarak periodontal iyileşmeye katkısı olabileceğini rapor eden çalışmaların sonuçları ile uyumludur (205, 208). Her iki grupta IL-1 β seviyesindeki değişimin MMP-8 seviyesindeki değişimle benzer olması, IL-1 β 'nin MMP-8 üretimini artırdığını rapor eden çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir (91, 135).

Periodontitiste, prostaglandinler, sitokinler, periodontopatojenik bakteriler ve bunların virulans faktörlerinin etkisiyle PMNL aktivasyonu gerçekleşmektedir. Nötrofillerin azurofilik granüllerinden salınan MPO enzimi, antimikrobiyal etkilerinin dışında oksidatif stres etkisiyle matriks yıkımının sorumluları olan MMP-8 ve MMP-9'un latent formunun aktivasyonunun da ana kaynağı kabul edilmektedir (199, 209). Bilgilerimiz dahilinde literatürde diyet lazerin ROT'a etkileri hakkında yapılmış Balasubramaniam ve ark.'nın (210) çalışması haricinde başka bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda MPO seviyesini inceleyerek diyet lazerin oksidatif stres üzerindeki etkisi konusunda değerlendirme yapmayı amaçladık. Balasubramaniam ve ark. (210) kronik periodontitisli hastaların tedavisinde DYT & KYD'ye ilave diyet lazer (970 \pm 15 nm, 1 W) kullanımının PI, SK, SCD ve KAS gibi klinik parametrelere ve reaktif oksijen metabolitleri üzerine etkilerini kısa dönemde değerlendirmişlerdir. Reaktif oksijen metabolitlerinin hem DYT & KYD yapılan grupta hem de ilave lazer uygulanan grupta anlamlı düzeyde azaldığı görülürken iki grup arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Bizim çalışmamızda MPO seviyesinin lazer grubunda daha düşük olduğu ve azalma eğiliminin T3'e kadar devam ettiği görülürken, kontrol grubunda artış eğiliminin olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar lazerin enflamasyonu azaltarak oksidatif stres üzerinde olumlu etkileri

olduğunu işaret etmektedir. Ayrıca nötrofiller hem MPO üretiminde hem de EHİ sürecinde önemli rol oynamaktadır. MPO seviyesi ve EHİ'nin lazer grubunda daha az olması, lazerin nötrofil üretiminde azalmaya sebep olabileceğini işaret etmektedir. Nötrofiller mikroorganizmalara karşı konak savunmasının önemli koruyucusudurlar. Bu nedenlerle çalışmamızın bulguları lazerin antibakteriyal aktivitesiyle (21, 22, 195) oksidatif stresi azaltabileceğini desteklemektedir. Kronik antijenik uyarılara ve nötrofil sayılarındaki artışa bağlı olarak daha fazla MPO üretildiğini söyleyebiliriz. Ayrıca diyet lazer uygulamasının MPO'nun azalmasına yol açarak MMP-8'in aktivasyonunu azalttığı düşünmekteyiz.

Periodontitisin tedavisinde diyet lazer uygulamasının enflamatuvar değişikliklere etkisi genellikle deneysel ve klinik çalışmalarda bakteriyel yükteki değişim ve klinik parametreler değerlendirilerek yapılmıştır. DYT & KYD'ye ilave diyet lazer uygulamasının, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *P. gingivalis* gibi patojen bakterileri azaltarak enflamasyonu azalttığı ve periodontal dokularda anlamlı iyileşmeler sağladığı belirtilmiştir (22, 165, 195). Çalışmamızda periodontisteki lokal enflamatuvar değişiklikleri EHİ ile değerlendirmeyi amaçladık. Her iki grupta da EHİ'nin zamanla azaldığı görülürken, lazer grubunda bu azalmanın daha fazla olduğu saptandı. Bu bulgular diyet lazer uygulamasının periodontal dokulardaki enflamasyonu azalttığını rapor eden çalışma sonuçları ile uyumludur (22, 171, 208). Kontrol grubunda lazer grubuna göre enflamasyon oluşan bölgede daha fazla lökosit bulunduğundan, bu hücrelerce daha fazla MPO üretimi gerçekleşmiş olabilir. Bunun sonucunda oluşan oksidatif stres ve MPO'nun direkt etkisinin MMP-8 seviyesinin artmasına katkı sağladığını düşünmekteyiz. MPO ve MMP-8 seviyelerindeki azalma ile EHİ seviyesindeki azalmanın uyumlu olması literatürde nötrofillerin, MPO ve MMP-8 üretimindeki önemli üreticiler olduğunu rapor eden çalışmaların sonuçları ile desteklenmektedir (199, 209). Ayrıca EHİ seviyesinin azalmasıyla enflamasyonun azaldığını gösteren bulgularımız, literatürde diyet lazerin bakterisidal etkisiyle enflamasyonu azalttığını ve dokuların iyileşmesini artırdığını gösteren çalışmalarla da uyumludur (22, 171, 195, 208).

Osteoimmünolojideki gelişmeler ile beraber kemik rezorpsiyonunda rol oynayan RANK, RANKL ve OPG'nin periodontitis patogenezindeki rolleri üzerinde durulmaya başlanmıştır. Periodontitisli hastalarda, alveoler kemik kaybı oluşan bölgelerde granülatöz dokulardaki RANKL ve OPG seviyeleri sağlıklı dokularla karşılaştırıldığında, RANKL seviyesi yükselirken buna karşın OPG seviyesi ise düşmektedir. RANK ve RANKL osteoklast oluşumunu düzenleyen anahtar faktörlerdir. RANK, RANKL ve OPG'nin periodontitiste alveoler kemik yıkımını düzenlediği gösterildikten sonra periodontal hastalığın bir göstergesi olabilecekleri düşünülmüştür (149). Bu çalışmada lazer grubunda kontrol grubuna göre RANK ve RANKL seviyelerinde azalma gözlenirken OPG seviyeleri artmıştır. Literatürde diyet lazer tedavisinin alveoler kemik kaybına olan etkilerini RANK, RANKL ve OPG ile değerlendiren bizim çalışmamız dışında başka bir çalışma bulunmamaktadır. Theodoro ve ark. (207) deneysel periodontitisin tedavisinde diyet lazer uygulamasının etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında, kemik yıkımıyla ilgili belirteç olan TRAP seviyesinin lazer uygulanan grupta azaldığını bunun yanında kemik yapımıyla ilişkili RUNX-2 ve osteokalsin seviyelerinin ise arttığını rapor etmişlerdir. Theodoro ve ark.'nın (207) diyet lazerin osteoklastogenezise neden olan enflamatuvar sitokinlerde ve enflamasyonda azalmaya neden olduğunu gösteren bulguları, bizim çalışmamızdaki lazer grubunda RANK ve RANKL seviyelerinin azaldığını ve OPG seviyesinin arttığını gösteren bulgularımızı desteklemektedir. IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-17 ve TNF- α gibi sitokinler, PGE₂ ve hormonlar RANKL/OPG oranını artırarak kemik rezorpsiyonuna neden olmaktadır (12, 13, 138-141, 147). Çalışmamızda kontrol grubunda lazer grubuna göre IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerde daha çok artış ve yoğun EHI gözlenmiştir. Kemik yıkımının kontrol grubunda daha fazla olmasının, bu lökositlerin ve proenflamatuvar sitokinlerin osteoblastlardan RANKL üretimine neden olarak osteoklastogenezisi uyarmaları nedeniyle olabileceğini düşünmekteyiz. Periodontal enflamatuvar lezyonlardaki T ve B hücreleri RANKL'a bağımlı yollarla veya RANKL aktivasyonu olmaksızın alveoler kemiğinin rezorpsiyonunda önemli rol oynarlar. Periodontal dokularda aktive T hücreleri RANKL açığa çıkararak doğrudan kemik rezorpsiyonuna neden olurken T hücrelerince üretilen sitokinler, osteoblastlar ve stromal hücrelerden RANKL ekspresyonunu artırarak dolaylı yoldan da kemik

rezorpsiyonuna neden olabilir. IL-1'in RANK ve RANKL'ı düzenleyerek osteoklastogenezisi uyarması ve kemik yıkımına sebep olması, çalışmamızda bu parametrelerin seviyelerinin kontrol grubunda lazer grubuna göre daha yüksek olmasıyla uyumludur. Ayrıca TNF- α 'nın da RANKL'ı direkt veya indirekt olarak etkilemesi bu sitokinle RANKL'ın güçlü ilişkisini göstermektedir. Sonuçta IL-1 β , IL-6 ve TNF- α , RANK ve RANKL ekspresyonunu artırırken OPG ekspresyonunu ise azaltmaktadır. Çalışmamızda kemik yıkımının azaldığını gösteren RANK ve RANKL seviyelerindeki azalma, diyet lazer uygulamasının bu sitokinlerin seviyelerini azalttığını gösteren çalışmalar ile de desteklenmektedir (205, 208). Ayrıca diyet lazer uygulanan grupta OPG seviyelerinin daha yüksek, RANK ve RANKL seviyelerinin ise daha düşük olması, MPKO ve DPKO'nun lazer grubunda daha yüksek olmasıyla uyumlu olarak diyet lazerin alveoler kemik kaybını azalttığını destekler niteliktedir.

Periodontitisin tedavisinde diyet lazer uygulamasının alveoler kemik kaybına etkilerini radyografik olarak değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Bu yüzden çalışmamızdaki radyografik bulguları literatürdeki klinik çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırdık. Sağlam ve ark. (208) kronik periodontitisli hastalarda DYT & KYD'ye ilave diyet lazer (940 nm, 1,5 W, 15 J/cm²) uygulamasının klinik ve biyokimyasal etkilerini araştırmışlardır. Kontrol grubuna sadece DYT & KYD uygulanırken test grubuna DYT & KYD ve diyet lazer tedavisi uygulanmıştır. 1, 3 ve 6 ay sonra SK, SCD, KAS, PI ve GI'da test grubunda kontrol grubuna göre anlamlı iyileşmeler gözlenmiştir. Bu sonuçlara benzer şekilde Üstün ve ark. (205) da diyet lazer (810 nm) uyguladıkları çalışmalarında klinik parametrelerde anlamlı iyileşmeler bulmuşlardır. Theodoro ve ark. (207) deneysel periodontitisin tedavisinde DYT & KYD'ye ilave ve tek başına diyet lazer (808 nm, 1 W, 20 s, 20 Hz, 10 J) kullanmışlardır. Lazerin etkilerini histopatolojik, histometrik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirdiklerinde diyet lazer uygulanan gruplarda periodontal doku tamirinin daha iyi olduğunu, alveoler kemik kaybının ise daha az olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmaların aksine Euzebio Alves ve ark.'nın (165) DYT & KYD'ye ilave diyet lazer (808 nm, 1,5 W, 20 s) uygulayarak yaptıkları tedavi sonucunda SK, PI, SCD ve KAS gibi klinik bulgularda ve *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* ve *P. gingivalis* gibi bakterilerde azalma

yönünden ek bir faydasının olmadığı görülmüştür. Benzer şekilde Dukic ve ark. (211) cerrahisiz periodontal tedaviyi destekleyici olarak uyguladıkları diyet lazer (980 nm) tedavisi sonucunda çok derin olmayan periodontal cepler haricinde SK, KAS ve aproksimal plak indeksinde lazer uygulanan grup ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Bu çalışmada ise lazer uygulanan grupta kontrol grubuna göre hem DPKO hem de MPKO seviyelerinin sayısal olarak daha yüksek olduğu görülürken istatistiksel olarak anlamlı farklılık sadece T2’de DPKO için bulunmuştur. Lazer grubunda DPKO’nun daha fazla olması literatürde diyet lazerin enflamasyonu azalttığını ve periodontal iyileşmeyi artırdığını rapor eden çalışmaların sonuçları ile uyumludur (205, 207, 208). Ayrıca bu bulgumuz çalışmamızda lazerin MPO, MMP-8, IL-1 β , IL-6, TNF- α seviyelerini ve EHI’yi azaltarak periodontal dokularda iyileşmeyi artırdığını gösteren diğer bulgularımız ile de desteklenmektedir.

Enfeksiyonlar, travma ve hipoksi gibi durumlarda vücut tarafından üretilen akut faz proteinlerinden biri olan CRP, sistemik enflamasyonun belirteci olarak kabul edilmektedir. Romatoid artrit ve kardiyovasküler hastalıklar gibi sistemik durumlarda olduğu gibi periodontitiste de CRP seviyesi yükselmektedir. Literatürde CRP’nin periodontal hastalıkların potansiyel bir belirteci olabileceği ve etkili bir periodontal tedavi ile serum CRP seviyelerinin düşürülebileceği rapor edilmiştir (212, 213). Literatürde diyet lazer uygulamasının sistemik etkilerini gösteren CRP ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Giannopoulou ve ark. (196) diyet lazerin periodontal dokulara olan etkisini araştırdıkları çalışmalarında, sistemik etkiyi değerlendirmek için başlangıçta, 2 hafta, 2 ay ve 6 ay sonra serum amyloid A ve serum amyloid P düzeylerine bakmışlardır. 2. haftada serum amyloid P seviyesi azalırken 6. ayda anlamlı derecede artmıştır. Serum amyloid A seviyelerinde ise 2. haftada ve 6. ayda anlamlı bir farklılık bulunmazken 6. ayda artış gözlenmiştir. Biz de bu çalışmada diyet lazerin periodontal tedavideki rolünün sistemik etkilerini değerlendirmek için serum CRP seviyesini değerlendirdik. Çalışmamızda her iki grupta da CRP seviyesindeki değişim benzer olup istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Çalışmamızda CRP seviyelerinde anlamlı bir değişimin olmaması, Giannopoulou ve ark.’nın (196) çalışmasındaki akut faz proteinlerinden biri olan serum amyloid A seviyesindeki bulgular ile uyumludur. Lazerin sistemik

etkisinin bir göstergesi olan CRP seviyesinde anlamlı bir değişimin olmaması, lazer uygulamasının IL-1 β , IL-6 ve TNF- α seviyelerini ve enflamasyonu azaltarak periodontal dokulardaki iyileşmeyi artırdığını gösteren lokal belirtiler ile çelişmektedir. Periodontitisin enflamatuvar sürecinde makrofajlar IL-6 ve TNF- α gibi sitokinleri üretmektedirler. Bu sitokinler de karaciğerden fibrinojen ve CRP gibi akut faz reaktanlarının salgılanmasını uyarmakta ve sistemik etkiler gözlenmektedir (214). Literatürde periodontal tedavinin CRP seviyesine olan etkilerini değerlendiren ve kısa dönemde CRP seviyelerinde anlamlı bir değişimin olmadığını rapor eden çalışmalar bulunmaktadır (215, 216). Bizim çalışmamızda da deney süresinin kısa olması, CRP seviyelerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık oluşturmamış olabilir. Bu sonuçlar, periodontal tedavide uygulanan diyet lazerin periodontal hastalıkların sebep olduğu enflamasyonun sistemik bulgularının azaltılmasında sadece DYT & KYD uygulanmasına göre kısa dönemde ilave bir katkısının olmadığını göstermektedir.

Literatürdeki diyet lazer uygulamalarıyla ilgili çalışmalar incelendiğinde, lazerin enerji düzeyi, periodontal cebe uygulama süresi ve moduyla ilgili standart bir prosedürün olmadığı görülmektedir. Ayrıca çalışmaların daha çok tek köklü dişlerde yapıldığı ve lazerin etkinliğinin çok köklü dişlerde daha belirgin olabileceği düşünülebilir. Tüm bu değişkenlerin varlığı, sonuçların hassas bir şekilde analizini engellemektedir ve diyet lazerin cerrahisiz periodontal tedaviye ek bir faydası olduğunu destekleyenler ile ilave katkısının olmadığını öne süren araştırmacılar arasındaki çelişkinin de muhtemel sebebi olabilir.

Bu çalışma bazı sınırlamalara sahiptir;

1. Bu çalışmada sadece DYT & KYD ile diyet lazer tedavisinin sonuçları araştırıldı. Periodontitis oluşturulmuş fakat tedavi uygulanmamış bir grup bulunmamaktadır. Bu nedenle çalıştığımız parametrelerin tedavi öncesi ile tedavi sonrasındaki seviyeleri karşılaştırılmadı.
2. Literatürde periodontal tedavinin sistemik etkilerinin görülebilmesi için Giannopoulou ve ark.'nın (196) da rapor ettiği gibi hastaların daha uzun süre takibi gerekmektedir. Bu çalışmada DYT & KYD ile diyet lazer

uygulamalarının serum CRP seviyelerine etkisi kısa dönemde değerlendirildiğinden anlamlı bir değişim saptanmamış olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deneysel periodontitisli ratlarda diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesine ilaveten uygulanan diyet lazer uygulamasının histomorfometrik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışmada şu sonuçlara varılmıştır;

1. DYT & KYD'ye ilave diyet lazer uygulamasının, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α seviyelerinde anlamlı azalmalar sağlayarak periodontitisin patogenezinde önemli roller oynayan proenflamatuvar sitokin seviyelerinin azalmasında etkili olabileceği görüldü.
2. Lazer grubunda tüm zamanlardaki MMP-8 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olması, diyet lazerin doku yıkımını azalttığını göstermektedir.
3. Lazer grubunda tüm zamanlardaki MPO düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu bulundu. Bu bulgu lazerin oksidatif stres üzerinde olumlu etkileri olduğunu işaret etmektedir.
4. Lazer grubunda tüm zamanlardaki EHI düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olması, diyet lazerin periodontal dokulardaki enflamasyonu azalttığını göstermektedir.
5. Diyet lazer uygulamasının OPG seviyesini artırdığını, RANK ve RANKL seviyelerini azalttığını gösteren bulgularımız, periodontal hastalıklarda kemik yapım ve yıkım süreçlerine olumlu katkılarının olabileceğini işaret etmektedir.
6. Diyet lazerin periodontal dokulara etkisini radyografik olarak incelediğimizde lazer ve kontrol grupları arasında MPKO için istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın bulunmadığı görüldü. DPKO ise lazer grubunda sadece T2'de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Bu bulgu, periodontitiste diyet lazerin alveoler kemik kaybının önlenmesinde sınırlı katkılarının olabileceğini göstermektedir.
7. Çalışmamız diyet lazer uygulamasının serum CRP düzeyine etkisini inceleyen ilk çalışmadır. Çalışma sonunda serum CRP seviyelerinde gruplar

arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın bulunmadığı saptandı. Bu bulgu periodontal tedavide uygulanan diyot lazerin periodontal hastalıkların sebep olduğu enflamasyonun sistemik bulgularının azaltılmasında kısa dönemde bir katkısının olmadığını işaret etmektedir.

8. Bu çalışmanın sonuçları diyot lazer uygulamasının periodontal enflamasyonun azalmasına, doku yıkımının önlenmesine ve iyileşmeye ilave katkılar sağlayabileceğini gösteren önemli kanıtlar sunmaktadır.
9. Periodontal hastalıklarda diyot lazer uygulamasının sistemik etkilerini uzun dönemde değerlendiren çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.
10. Diyot lazer tedavisinin alveoler kemik kaybı üzerine etkilerine dair literatürde az sayıda çalışma mevcuttur. Çalışmamızda alveoler kemik kaybının değerlendirilmesi mevcut yazılım yardımıyla periapikal radyografiler üzerinden yapılmıştır. Daha detaylı ve hassas inceleme sağlayan mikro CT gibi yeni teknolojik gelişmelerden yararlanılması düşünülebilir.
11. Periodontal tedavide kullanılan diyot lazerlerin modu, enerji düzeyi veya uygulama süresiyle ilgili standart bir prosedürün olmaması bu lazerle ilgili daha ileri çalışmaların yapılmasını gerektirmektedir. Bu konudaki gelişmelerle beraber diyot lazerin periodontal tedavideki klinik etkisinin daha da önem kazanacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Lindhe, J., Okamoto, H., Yoneyama, T., Haffajee, A., Socransky, S. S. (1989). Longitudinal changes in periodontal disease in untreated subjects. *J Clin Periodontol*, 16(10), 662-670.
2. Grossi, S. G., Zambon, J. J., Ho, A. W., Koch, G., Dunford, R. G., Machtei, E. E., Norderyd O. M., Genco, R.J. (1994). Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol*, 65(3), 260-267.
3. Kinane, D. F., Bartold, P. M. (2007). Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontol 2000*, 43, 278-293.
4. Golub, L. M., Ryan, M. E., Williams, R. C. (1998). Modulation of the host response in the treatment of periodontitis. *Dent Today*, 17(10), 102-106, 108-109.
5. Loesche, W. J., Grossman, N. S. (2001). Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Rev*, 14(4), 727-752.
6. Borges, I., Jr., Moreira, E. A., Filho, D. W., de Oliveira, T. B., da Silva, M. B., Frode, T. S. (2007). Proinflammatory and oxidative stress markers in patients with periodontal disease. *Mediators Inflamm*, 2007, 1-5.
7. Tsai, I. S., Tsai, C. C., Ho, Y. P., Ho, K. Y., Wu, Y. M., Hung, C. C. (2005). Interleukin-12 and interleukin-16 in periodontal disease. *Cytokine*, 31(1), 34-40.
8. Otomo-Corgel, J., Pucher, J. J., Rethman, M. P., Reynolds, M. A. (2012). State of the science: chronic periodontitis and systemic health. *J Evid Based Dent Pract*, 12(3 Suppl), 20-28.
9. Loos, B. G. (2005). Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol*, 76(11 Suppl), 2106-2115.
10. Zhou, S. Y., Duan, X. Q., Hu, R., Ouyang, X. Y. (2013). Effect of Non-surgical Periodontal Therapy on Serum Levels of TNF-a, IL-6 and C-reactive

- Protein in Periodontitis Subjects with Stable Coronary Heart Disease. *Chin J Dent Res*, 16(2), 145-151.
11. Kumar, S., Shah, S., Budhiraja, S., Desai, K., Shah, C., Mehta, D. (2013). The effect of periodontal treatment on C-reactive protein: A clinical study. *J Nat Sci Biol Med*, 4(2), 379-382.
 12. Kostenuik, P. J., Shalhoub, V. (2001). Osteoprotegerin: a physiological and pharmacological inhibitor of bone resorption. *Curr Pharm Des*, 7(8), 613-635.
 13. Hofbauer, L. C. (1999). Osteoprotegerin ligand and osteoprotegerin: novel implications for osteoclast biology and bone metabolism. *Eur J Endocrinol*, 141(3), 195-210.
 14. Palosaari, H., Wahlgren, J., Larmas, M., Ronka, H., Sorsa, T., Salo, T., Tjäderhane, L. (2000). The expression of MMP-8 in human odontoblasts and dental pulp cells is down-regulated by TGF-beta1. *J Dent Res*, 79(1), 77-84.
 15. Romanelli, R., Mancini, S., Laschinger, C., Overall, C. M., Sodek, J., McCulloch, C. A. (1999). Activation of neutrophil collagenase in periodontitis. *Infect Immun*, 67(5), 2319-2326.
 16. Sorsa, T., Hernandez, M., Leppilahti, J., Munjal, S., Netuschil, L., Mantyla, P. (2010). Detection of gingival crevicular fluid MMP-8 levels with different laboratory and chair-side methods. *Oral Dis*, 16(1), 39-45.
 17. Sorsa, T., Mantyla, P., Ronka, H., Kallio, P., Kallis, G. B., Lundqvist, C., Kinane, D.F., Salo, T., Golub, L.M., Teronen, O., Tikanoja, S. (1999). Scientific basis of a matrix metalloproteinase-8 specific chair-side test for monitoring periodontal and peri-implant health and disease. *Ann N Y Acad Sci*, 878, 130-140.
 18. Sorsa, T., Tervahartiala, T., Leppilahti, J., Hernandez, M., Gamonal, J., Tuomainen, A. M., Lauhio, A., Pussinen, P.J., Mäntylä, P. (2011). Collagenase-2 (MMP-8) as a point-of-care biomarker in periodontitis and cardiovascular diseases. Therapeutic response to non-antimicrobial properties of tetracyclines. *Pharmacol Res*, 63(2), 108-113.
 19. Gracy, R. W., Talent, J. M., Kong, Y., Conrad, C. C. (1999). Reactive oxygen species: the unavoidable environmental insult? *Mutat Res*, 428(1-2), 17-22.

20. Chapple, I. L., Matthews, J. B. (2007). The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000*, 43, 160-232.
21. Moritz, A., Gutknecht, N., Doertbudak, O., Goharkhay, K., Schoop, U., Schauer, P., Sperr, W. (1997). Bacterial reduction in periodontal pockets through irradiation with a diode laser: a pilot study. *J Clin Laser Med Surg*, 15(1), 33-37.
22. Moritz, A., Schoop, U., Goharkhay, K., Schauer, P., Doertbudak, O., Wernisch, J., Sperr, W. (1998). Treatment of periodontal pockets with a diode laser. *Lasers Surg Med*, 22(5), 302-311.
23. Romanos, G. E., Henze, M., Banihashemi, S., Parsanejad, H. R., Winckler, J., Nentwig, G. H. (2004). Removal of epithelium in periodontal pockets following diode (980 nm) laser application in the animal model: an in vitro study. *Photomed Laser Surg*, 22(3), 177-183.
24. Oliver, R. C., Brown, L. J., Loe, H. (1998). Periodontal diseases in the United States population. *J Periodontol*, 69(2), 269-278.
25. Grossi, S. G., Genco, R. J., Machtei, E. E., Ho, A. W., Koch, G., Dunford, R., Zambon, J.J., Hausmann, E. (1995). Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. *J Periodontol*, 66(1), 23-29.
26. Socransky, S. S., Haffajee, A. D. (2005). Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000*, 38, 135-187.
27. Newman, M. G., Takei, H. H., Carranza, F. A. (2002). *Carranza's Clinical Periodontology*. 9 ed. Philadelphia, PA.: W.B. Saunders Company.
28. Tatakis, D. N., Trombelli, L. (2004). Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. I. Background review and rationale. *J Clin Periodontol*, 31(4), 229-238.
29. Henderson, B., Wilson, M. (1998). Commensal communism and the oral cavity. *J Dent Res*, 77(9), 1674-1683.
30. Van Winkelhoff, A. J., Van der Velden, U., Winkel, E. G., de Graaff, J. (1986). Black-pigmented Bacteroides and motile organisms on oral mucosal surfaces in individuals with and without periodontal breakdown. *J Periodontal Res*, 21(4), 434-439.

31. Mager, D. L., Ximenez-Fyvie, L. A., Haffajee, A. D., Socransky, S. S. (2003). Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. *J Clin Periodontol*, 30(7), 644-654.
32. Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., Dewhirst, F. E. (2005). Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol*, 43(11), 5721-5732.
33. Marsh, P. D., Percival, R. S. (2006). The oral microflora--friend or foe? Can we decide? *Int Dent J*, 56(4 Suppl 1), 233-239.
34. Marsh, P. D. (2003). Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology*, 149(Pt 2), 279-294.
35. Nyvad, B., Kilian, M. (1987). Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo. *Scand J Dent Res*, 95(5), 369-380.
36. Rickard, A. H., Gilbert, P., High, N. J., Kolenbrander, P. E., Handley, P. S. (2003). Bacterial coaggregation: an integral process in the development of multi-species biofilms. *Trends Microbiol*, 11(2), 94-100.
37. Jones, S. J. (1972). A special relationship between spherical and filamentous microorganisms in mature human dental plaque. *Arch Oral Biol*, 17(3), 613-616.
38. Kolenbrander, P. E., Andersen, R. N., Blehert, D. S., Eglund, P. G., Foster, J. S., Palmer, R. J., Jr. (2002). Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*, 66(3), 486-505.
39. Armitage, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*, 4(1), 1-6.
40. Lamster, I. B., Lalla, E. (2001). Periodontal disease and diabetes mellitus: discussion, conclusions, and recommendations. *Ann Periodontol*, 6(1), 146-149.
41. Reddy, M. S. (2001). Osteoporosis and periodontitis: discussion, conclusions, and recommendations. *Ann Periodontol*, 6(1), 214-217.
42. Wactawski-Wende, J. (2001). Periodontal diseases and osteoporosis: association and mechanisms. *Ann Periodontol*, 6(1), 197-208.

43. Amano, A., Kishima, T., Akiyama, S., Nakagawa, I., Hamada, S., Morisaki, I. (2001). Relationship of periodontopathic bacteria with early-onset periodontitis in Down's syndrome. *J Periodontol*, 72(3), 368-373.
44. Kinane, D. F. (1999). Periodontitis modified by systemic factors. *Ann Periodontol*, 4(1), 54-64.
45. Lamster, I. B., Grbic, J. T., Bucklan, R. S., Mitchell-Lewis, D., Reynolds, H. S., Zambon, J. J. (1997). Epidemiology and diagnosis of HIV-associated periodontal diseases. *Oral Dis*, 3 Suppl 1, S141-148.
46. Warren, K. R., Postolache, T. T., Groer, M. E., Pinjari, O., Kelly, D. L., Reynolds, M. A. (2014). Role of chronic stress and depression in periodontal diseases. *Periodontol 2000*, 64(1), 127-138.
47. Genco, R. J., Borgnakke, W. S. (2013). Risk factors for periodontal disease. *Periodontol 2000*, 62(1), 59-94.
48. Schroeder, H. E., Graf-de Beer, M., Attstrom, R. (1975). Initial gingivitis in dogs. *J Periodontal Res*, 10(3), 128-142.
49. Payne, W. A., Page, R. C., Ogilvie, A. L., Hall, W. B. (1975). Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. *J Periodontal Res*, 10(2), 51-64.
50. Page, R. C. (1986). Gingivitis. *J Clin Periodontol*, 13(5), 345-359.
51. Reinhardt, R. A., Bolton, R. W., McDonald, T. L., DuBois, L. M., Kaldahl, W. B. (1988). In situ lymphocyte subpopulations from active versus stable periodontal sites. *J Periodontol*, 59(10), 656-670.
52. Hajishengallis, G. (2014). Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol*, 35(1), 3-11.
53. Miyasaki, K. T. (1991). The neutrophil: mechanisms of controlling periodontal bacteria. *J Periodontol*, 62(12), 761-774.
54. Van Dyke, T. E., Hoop, G. A. (1990). Neutrophil function and oral disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1(2), 117-133.
55. Dennison, D. K., Van Dyke, T. E. (1997). The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease. *Periodontol 2000*, 14, 54-78.

56. Page, R. C., Schroeder, H. E. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*, 34(3), 235-249.
57. Bascones, A., Gamonal, J., Gomez, M., Silva, A., Gonzalez, M. A. (2004). New knowledge of the pathogenesis of periodontal disease. *Quintessence Int*, 35(9), 706-716.
58. Delima, A. J., Van Dyke, T. E. (2003). Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*, 31, 55-76.
59. Kirkwood, K. L., Cirelli, J. A., Rogers, J. E., Giannobile, W. V. (2007). Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. *Periodontol 2000*, 43, 294-315.
60. Berglundh, T., Donati, M., Zitzmann, N. (2007). B cells in periodontitis: friends or enemies? *Periodontol 2000*, 45, 51-66.
61. Gemmell, E., Yamazaki, K., Seymour, G. J. (2007). The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity. *Periodontol 2000*, 43, 14-40.
62. Offenbacher, S. (1996). Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*, 1(1), 821-878.
63. Graves, D. (2008). Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol*, 79(8 Suppl), 1585-1591.
64. Page, R. C., Offenbacher, S., Schroeder, H. E., Seymour, G. J., Kornman, K. S. (1997). Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000*, 14, 216-248.
65. Seymour, G. J., Gemmell, E. (2001). Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontol Scand*, 59(3), 167-173.
66. Noronha, I. L., Niemir, Z., Stein, H., Waldherr, R. (1995). Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrol Dial Transplant*, 10(6), 775-786.
67. Fisman, E. Z., Motro, M., Tenenbaum, A. (2003). Cardiovascular diabetology in the core of a novel interleukins classification: the bad, the good and the aloof. *Cardiovasc Diabetol*, 2, 11.
68. Kjeldsen, M., Holmstrup, P., Bendtzen, K. (1993). Marginal periodontitis and cytokines: a review of the literature. *J Periodontol*, 64(11), 1013-1022.

69. Liu, Y. C., Lerner, U. H., Teng, Y. T. (2010). Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000*, 52(1), 163-206.
70. Lerner, U. H. (2006). Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res*, 85(7), 596-607.
71. Gemmell, E., Marshall, R. I., Seymour, G. J. (1997). Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000*, 14, 112-143.
72. Garlet, G. P., Aranha, A. M. F., Silveira, E. M., Vieira, A. E., Queiroz-Junior, C. M., Madeira, M. F. M., Fukada, S. Y., Silva, T. A. (2012). *Inflammation, Chronic Diseases and Cancer - Cell and Molecular Biology, Immunology and Clinical Bases*, Croatia: InTech.
73. Dinarello, C. A. (2011). Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*, 117(14), 3720-3732.
74. Delaleu, N., Bickel, M. (2004). Interleukin-1 beta and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. *Periodontol 2000*, 35, 42-52.
75. Contassot, E., Beer, H. D., French, L. E. (2012). Interleukin-1, inflammasomes, autoinflammation and the skin. *Swiss Med Wkly*, 31,142.
76. Lowe, G. D. (2001). The relationship between infection, inflammation, and cardiovascular disease: an overview. *Ann Periodontol*, 6(1), 1-8.
77. Ridker, P. M., Silvertown, J. D. (2008). Inflammation, C-reactive protein, and atherothrombosis. *J Periodontol*, 79(8 Suppl), 1544-1551.
78. Ebersole, J. L., Cappelli, D. (2000). Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontol 2000*, 23, 19-49.
79. Sims, J. E., Nicklin, M. J., Bazan, J. F., Barton, J. L., Busfield, S. J., Ford, J. E., Kastelein, R.A., Kumar, S., Lin, H., Mulero, J.J., Pan, J., Pan, Y., Smith, D.E., Young, P.R. (2001). A new nomenclature for IL-1-family genes. *Trends Immunol*, 22(10), 536-537.
80. Chan, J. K., Roth, J., Oppenheim, J. J., Tracey, K. J., Vogl, T., Feldmann, M., Horwood, N., Nanchahal, J. (2012). Alarmins: awaiting a clinical response. *J Clin Invest*, 122(8), 2711-2719.

81. Cerretti, D. P., Kozlosky, C. J., Mosley, B., Nelson, N., Van Ness, K., Greenstreet, T. A., March, C.J., Kronheim, S.R., Druck, T., Cannizzaro, L.A. (1992). Molecular cloning of the interleukin-1 beta converting enzyme. *Science*, 256(5053), 97-100.
82. Tatakis, D. N. (1993). Interleukin-1 and bone metabolism: a review. *J Periodontol*, 64(5 Suppl), 416-431.
83. Hazuda, D. J., Lee, J. C., Young, P. R. (1988). The kinetics of interleukin 1 secretion from activated monocytes. Differences between interleukin 1 alpha and interleukin 1 beta. *J Biol Chem*, 263(17), 8473-8479.
84. Dinarello, C. A. (1991). Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood*, 77(8), 1627-1652.
85. Dinarello, C. A. (1997). Interleukin-1. *Cytokine Growth Factor Rev*, 8(4), 253-265.
86. Dinarello, C. A. (1998). Interleukin-1, interleukin-1 receptors and interleukin-1 receptor antagonist. *Int Rev Immunol*, 16(5-6), 457-499.
87. Schwartz, Z., Goultschin, J., Dean, D. D., Boyan, B. D. (1997). Mechanisms of alveolar bone destruction in periodontitis. *Periodontol 2000*, 14, 158-172.
88. Okada, H., Murakami, S. (1998). Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, 9(3), 248-266.
89. Hirose, M., Ishihara, K., Saito, A., Nakagawa, T., Yamada, S., Okuda, K. (2001). Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. *J Periodontol*, 72(5), 590-597.
90. Hughes, F. J., Turner, W., Belibasakis, G., Martuscelli, G. (2006). Effects of growth factors and cytokines on osteoblast differentiation. *Periodontol 2000*, 41, 48-72.
91. Eltas, A., Orbak, R. (2012). Effect of 1,064-nm Nd:YAG laser therapy on GCF IL-1beta and MMP-8 levels in patients with chronic periodontitis. *Lasers Med Sci*, 27(3), 543-550.
92. Wilton, J. M., Bampton, J. L., Griffiths, G. S., Curtis, M. A., Life, J. S., Johnson, N. W., Powell, J.R., Harrap, G.J., Critchley, P. (1992). Interleukin-1 beta (IL-1 beta) levels in gingival crevicular fluid from adults with

- previous evidence of destructive periodontitis. A cross sectional study. *J Clin Periodontol*, 19(1), 53-57.
93. Van Snick, J. (1990). Interleukin-6: an overview. *Annu Rev Immunol*, 8, 253-278.
94. Feghali, C. A., Wright, T. M. (1997). Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front Biosci*, 2, d12-26.
95. Wong, G. G., Witek-Giannotti, J. S., Temple, P. A., Kriz, R., Ferenz, C., Hewick, R. M., Clark, S.C., Ikebuchi, K., Ogawa, M. (1988). Stimulation of murine hemopoietic colony formation by human IL-6. *J Immunol*, 140(9), 3040-3044.
96. Hirano, T., Akira, S., Taga, T., Kishimoto, T. (1990). Biological and clinical aspects of interleukin 6. *Immunol Today*, 11(12), 443-449.
97. Giannopoulou, C., Kamma, J. J., Mombelli, A. (2003). Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol*, 30(2), 145-153.
98. Ishimi, Y., Miyaura, C., Jin, C. H., Akatsu, T., Abe, E., Nakamura, Y., Yamaguchi, A., Yoshiki, S., Matsuda, T., Hirano, T. (1990). IL-6 is produced by osteoblasts and induces bone resorption. *J Immunol*, 145(10), 3297-3303.
99. Ohsaki, Y., Takahashi, S., Scarcez, T., Demulder, A., Nishihara, T., Williams, R., Roodman, G. D. (1992). Evidence for an autocrine/paracrine role for interleukin-6 in bone resorption by giant cells from giant cell tumors of bone. *Endocrinology*, 131(5), 2229-2234.
100. Van Dyke, T. E., Lester, M. A., Shapira, L. (1993). The role of the host response in periodontal disease progression: implications for future treatment strategies. *J Periodontol*, 64(8 Suppl), 792-806.
101. Taylor, J. J. (2010). Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000*, 54(1), 160-194.
102. Haba, D., Teslaru, S., Ungureanu, D., Hodorog, D., Alecu, C., Benghiac, A. G., Zetu, L., Ancuța, C., Ancuța, E., Nemțoi, A., Iordache, C. (2011). Evaluation of serum and gingival crevicular fluid C-reactive protein and IL-

- 6 levels in patients with periodontitis and transient ischemic attacks. *Rom J Morphol Embryol*, 52(4), 1243-1247.
103. Kardesler, L., Buduneli, N., Cetinkalp, S., Lappin, D., Kinane, D. F. (2011). Gingival crevicular fluid IL-6, tPA, PAI-2, albumin levels following initial periodontal treatment in chronic periodontitis patients with or without type 2 diabetes. *Inflamm Res*, 60(2), 143-151.
 104. Graves, D. T., Cochran, D. (2003). The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol*, 74(3), 391-401.
 105. Graves, D. T. (1999). The potential role of chemokines and inflammatory cytokines in periodontal disease progression. *Clin Infect Dis*, 28(3), 482-490.
 106. Peschon, J. J., Torrance, D. S., Stocking, K. L., Glaccum, M. B., Otten, C., Willis, C. R., Charrier, K., Morrissey, P.J., Ware, C.B., Mohler, K. M. (1998). TNF receptor-deficient mice reveal divergent roles for p55 and p75 in several models of inflammation. *J Immunol*, 160(2), 943-952.
 107. Matsumoto, M., Mariathasan, S., Nahm, M. H., Baranyay, F., Peschon, J. J., Chaplin, D. D. (1996). Role of lymphotoxin and the type I TNF receptor in the formation of germinal centers. *Science*, 271(5253), 1289-1291.
 108. Erdemir, E. O., Duran, I., Haliloglu, S. (2004). Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF-alpha in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 31(2), 99-104.
 109. Sheikhi, M., Gustafsson, A., Jarstrand, C. (2000). Cytokine, elastase and oxygen radical release by *Fusobacterium nucleatum*-activated leukocytes: a possible pathogenic factor in periodontitis. *J Clin Periodontol*, 27(10), 758-762.
 110. Wajant, H., Pfeffer, K., Pfizenmaier, K., Scheurich, P. (1998). Tumor necrosis factors in 1998. *Cytokine Growth Factor Rev*, 9(3-4), 297-302.
 111. Stashenko, P., Jandinski, J. J., Fujiyoshi, P., Rynar, J., Socransky, S. S. (1991). Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol*, 62(8), 504-509.

112. Heasman, P. A., Collins, J. G., Offenbacher, S. (1993). 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*, 28(4), 241-247.
113. Noh, M. K., Jung, M., Kim, S. H., Lee, S. R., Park, K. H., Kim, D. H., Kim, H. H., Park, Y.G. (2013). Assessment of IL-6, IL-8 and TNF-alpha levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Exp Ther Med*, 6(3), 847-851.
114. Gaspersic, R., Stiblar-Martincic, D., Osredkar, J., Skaleric, U. (2003). Influence of subcutaneous administration of recombinant TNF-alpha on ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontal Res*, 38(2), 198-203.
115. Rossomando, E. F., Kennedy, J. E., Hadjimichael, J. (1990). Tumour necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans. *Arch Oral Biol*, 35(6), 431-434.
116. Volanakis, J. E. (2001). Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol*, 38(2-3), 189-197.
117. Pepys, M. B., Hirschfield, G. M. (2003). C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*, 111(12), 1805-1812.
118. Du Clos, T. W. (2000). Function of C-reactive protein. *Ann Med*, 32(4), 274-278.
119. Kilpatrick, J. M., Volanakis, J. E. (1991). Molecular genetics, structure, and function of C-reactive protein. *Immunol Res*, 10(1), 43-53.
120. Pejicic, A., Kesic, L. J., Milasin, J. (2011). C-reactive protein as a systemic marker of inflammation in periodontitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 30(3), 407-414.
121. Chopra, R., Patil, S. R., Kalburgi, N. B., Mathur, S. (2012). Association between alveolar bone loss and serum C-reactive protein levels in aggressive and chronic periodontitis patients. *J Indian Soc Periodontol*, 16(1), 28-31.
122. Claus, D. R., Osmand, A. P., Gewurz, H. (1976). Radioimmunoassay of human C-reactive protein and levels in normal sera. *J Lab Clin Med*, 87(1), 120-128.

123. Massova, I., Kotra, L. P., Fridman, R., Mobashery, S. (1998). Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *FASEB J*, 12(12), 1075-1095.
124. Nagase, H., Woessner, J. F., Jr. (1999). Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*, 274(31), 21491-21494.
125. Lambert, E., Dasse, E., Haye, B., Petitfrere, E. (2004). TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol*, 49(3), 187-198.
126. Jones, C. B., Sane, D. C., Herrington, D. M. (2003). Matrix metalloproteinases: a review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovasc Res*, 59(4), 812-823.
127. Visse, R., Nagase, H. (2003). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res*, 92(8), 827-839.
128. Biyikoglu, B., Buduneli, N., Kardesler, L., Aksu, K., Pitkala, M., Sorsa, T. (2009). Gingival crevicular fluid MMP-8 and -13 and TIMP-1 levels in patients with rheumatoid arthritis and inflammatory periodontal disease. *J Periodontol*, 80(8), 1307-1314.
129. Uitto, V. J., Overall, C. M., McCulloch, C. (2003). Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*, 31, 77-104.
130. Wahlgren, J., Maisi, P., Sorsa, T., Sutinen, M., Tervahartiala, T., Pirila, E., Teronen, O., Hietanen, J., Tjäderhane, L., Salo, T. (2001). Expression and induction of collagenases (MMP-8 and -13) in plasma cells associated with bone-destructive lesions. *J Pathol*, 194(2), 217-224.
131. Prikk, K., Maisi, P., Pirila, E., Sepper, R., Salo, T., Wahlgren, J., Sorsa, T. (2001). In vivo collagenase-2 (MMP-8) expression by human bronchial epithelial cells and monocytes/macrophages in bronchiectasis. *J Pathol*, 194(2), 232-238.
132. Teles, R., Sakellari, D., Teles, F., Konstantinidis, A., Kent, R., Socransky, S., Haffajee, A. (2010). Relationships among gingival crevicular fluid biomarkers, clinical parameters of periodontal disease, and the subgingival microbiota. *J Periodontol*, 81(1), 89-98.

133. Kraft-Neumarker, M., Lorenz, K., Koch, R., Hoffmann, T., Mantyla, P., Sorsa, T., Netuschil, L. (2012). Full-mouth profile of active MMP-8 in periodontitis patients. *J Periodontal Res*, 47(1), 121-128.
134. Mantyla, P., Stenman, M., Kinane, D. F., Tikanoja, S., Luoto, H., Salo, T., Sorsa, T. (2003). Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodontal Res*, 38(4), 436-439.
135. Konopka, L., Pietrzak, A., Brzezinska-Blaszczyk, E. (2012). Effect of scaling and root planing on interleukin-1beta, interleukin-8 and MMP-8 levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *J Periodontal Res*, 47(6), 681-688.
136. Simonet, W. S., Lacey, D. L., Dunstan, C. R., Kelley, M., Chang, M. S., Luthy, R., Nguyen, H.Q., Wooden, S., Bennett, L., Boone, T., Shimamoto, G., DeRose, M., Elliott, R., Colombero, A., Tan, H. L., Trail, G., Sullivan, J., Davy, E., Bucay, N., Renshaw-Gegg, L., Hughes, T. M., Hill, D., Pattison, W., Campbell, P., Sander, S., Van, G., Tarpley, J., Derby, P., Lee, R., Boyle, W.J. (1997). Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 89(2), 309-319.
137. Yasuda, H., Shima, N., Nakagawa, N., Yamaguchi, K., Kinosaki, M., Mochizuki, S., Tomoyasu, A., Yano, K., Goto, M., Murakami, A., Tsuda, E., Morinaga, T., Higashio, K., Udagawa, N., Takahashi, N., Suda, T. (1998). Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(7), 3597-3602.
138. Blair, J. M., Zheng, Y., Dunstan, C. R. (2007). RANK ligand. *Int J Biochem Cell Biol*, 39(6), 1077-1081.
139. Khosla, S. (2001). Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology*, 142(12), 5050-5055.
140. Schoppet, M., Preissner, K. T., Hofbauer, L. C. (2002). RANK ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 22(4), 549-553.

141. Boyce, B. F., Xing, L. (2007). Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther*, 9 Suppl 1, S1.
142. Brandstrom, H., Bjorkman, T., Ljunggren, O. (2001). Regulation of osteoprotegerin secretion from primary cultures of human bone marrow stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 280(3), 831-835.
143. Onyia, J. E., Miles, R. R., Yang, X., Halladay, D. L., Hale, J., Glasebrook, A., McClure, D., Seno, G., Churgay, L., Chandrasekhar, S., Martin, T.J. (2000). In vivo demonstration that human parathyroid hormone 1-38 inhibits the expression of osteoprotegerin in bone with the kinetics of an immediate early gene. *J Bone Miner Res*, 15(5), 863-871.
144. Hofbauer, L. C., Neubauer, A., Heufelder, A. E. (2001). Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin: potential implications for the pathogenesis and treatment of malignant bone diseases. *Cancer*, 92(3), 460-470.
145. Eghbali-Fatourehchi, G., Khosla, S., Sanyal, A., Boyle, W. J., Lacey, D. L., Riggs, B. L. (2003). Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. *J Clin Invest*, 111(8), 1221-1230.
146. Kohli, S. S., Kohli, V. S. (2011). Role of RANKL-RANK/osteoprotegerin molecular complex in bone remodeling and its immunopathologic implications. *Indian J Endocrinol Metab*, 15(3), 175-181.
147. Stejskal, D., Bartek, J., Pastorkova, R., Ruzicka, V., Oral, I., Horalik, D. (2001). Osteoprotegerin, RANK, RANKL. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 145(2), 61-64.
148. Galibert, L., Tometsko, M. E., Anderson, D. M., Cosman, D., Dougall, W. C. (1998). The involvement of multiple tumor necrosis factor receptor (TNFR)-associated factors in the signaling mechanisms of receptor activator of NF-kappaB, a member of the TNFR superfamily. *J Biol Chem*, 273(51), 34120-34127.
149. Crotti, T., Smith, M. D., Hirsch, R., Soukoulis, S., Weedon, H., Capone, M., Ahern, M.J., Haynes, D. (2003). Receptor activator NF kappaB ligand

- (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodontal Res*, 38(4), 380-387.
150. Babur, C., Ozcan, G., Cebi, D. U., Pervane, B., Ozdemir, B., Yucel, A., Biri, A. A., Babür, C. (2012). Gingival crevicular fluid levels of osteoprotegerin (OPG) in premenopausal and postmenopausal women with or without chronic periodontitis. *J Dent*, 40(5), 364-371.
 151. Giannopoulou, C., Martinelli-Klay, C. P., Lombardi, T. (2012). Immunohistochemical expression of RANKL, RANK and OPG in gingival tissue of patients with periodontitis. *Acta Odontol Scand*, 70(6), 629-634.
 152. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39(1), 44-84.
 153. Akaike, T. (2001). Role of free radicals in viral pathogenesis and mutation. *Rev Med Virol*, 11(2), 87-101.
 154. Di Mascio, P., Murphy, M. E., Sies, H. (1991). Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr*, 53(1 Suppl), 194S-200S.
 155. Canakci, C. F., Tatar, A., Canakci, V., Cicek, Y., Oztas, S., Orbak, R. (2006). New evidence of premature oxidative DNA damage: mitochondrial DNA deletion in gingival tissue of patients with periodontitis. *J Periodontol*, 77(11), 1894-1900.
 156. Kimura, S., Yonemura, T., Kaya, H. (1993). Increased oxidative product formation by peripheral blood polymorphonuclear leukocytes in human periodontal diseases. *J Periodontal Res*, 28(3), 197-203.
 157. Hall, T. J., Schaeublin, M., Jeker, H., Fuller, K., Chambers, T. J. (1995). The role of reactive oxygen intermediates in osteoclastic bone resorption. *Biochem Biophys Res Commun*, 207(1), 280-287.
 158. Miricescu, D., Totan, A., Calenic, B., Mocanu, B., Didilescu, A., Mohora, M., Spinu, T., Greabu, M. (2014). Salivary biomarkers: relationship between oxidative stress and alveolar bone loss in chronic periodontitis. *Acta Odontol Scand*, 72(1), 42-47.

159. Wei, P. F., Ho, K. Y., Ho, Y. P., Wu, Y. M., Yang, Y. H., Tsai, C. C. (2004). The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1beta in gingival crevicular fluid: implications for oxidative stress in human periodontal diseases. *J Periodontol Res*, 39(5), 287-293.
160. Leppilahti, J., Hernandez-Rios, P., Gamonal, J., Tervahartiala, T., Brignardello-Petersen, R., Mantyla, P., Sorsa, T., Hernández, M. (2013). MMPs and myeloperoxidase in GCF provide site-specific diagnostic value for chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 41(4):348-56.
161. Drisko, C. H. (2001). Nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol 2000*, 25, 77-88.
162. Claffey, N., Polyzois, I., Ziaka, P. (2004). An overview of nonsurgical and surgical therapy. *Periodontol 2000*, 36, 35-44.
163. Dahiya, P., Kamal, R. (2013). Rotary instruments in the treatment of chronic periodontitis: A randomized clinical trial. *J Indian Soc Periodontol*, 17(6), 748-752.
164. Almaglouth, A. A., Cionca, N., Cancela, J. A., Decaillet, F., Courvoisier, D. S., Giannopoulou, C., Mombelli, A. (2014). Effect of periodontal treatment on peak serum levels of inflammatory markers. *Clin Oral Investig*, 23 Ocak 2014, Yayınlanmak üzere kabul edilmiştir.
165. Euzebio Alves, V. T., de Andrade, A. K., Toaliar, J. M., Conde, M. C., Zezell, D. M., Cai, S., Pannuti, C. M., De Micheli, G. (2013). Clinical and microbiological evaluation of high intensity diode laser adjunct to non-surgical periodontal treatment: a 6-month clinical trial. *Clin Oral Investig*, 17(1), 87-95.
166. Karlsson, M. R., Diogo Lofgren, C. I., Jansson, H. M. (2008). The effect of laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment in subjects with chronic periodontitis: a systematic review. *J Periodontol*, 79(11), 2021-2028.
167. Ishikawa, I., Aoki, A., Takasaki, A. A., Mizutani, K., Sasaki, K. M., Izumi, Y. (2009). Application of lasers in periodontics: true innovation or myth? *Periodontol 2000*, 50, 90-126.

168. Aoki, A., Sasaki, K. M., Watanabe, H., Ishikawa, I. (2004). Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol 2000*, 36, 59-97.
169. Tucker, D., Cobb, C. M., Rapley, J. W., Killooy, W. J. (1996). Morphologic changes following in vitro CO₂ laser treatment of calculus-laden root surfaces. *Lasers Surg Med*, 18(2), 150-156.
170. Caruso, U., Nastri, L., Piccolomini, R., d'Ercole, S., Mazza, C., Guida, L. (2008). Use of diode laser 980 nm as adjunctive therapy in the treatment of chronic periodontitis. A randomized controlled clinical trial. *New Microbiol*, 31(4), 513-518.
171. Kreisler, M., Al Haj, H., d'Hoedt, B. (2005). Clinical efficacy of semiconductor laser application as an adjunct to conventional scaling and root planing. *Lasers Surg Med*, 37(5), 350-355.
172. Bottura, P. E., Milanezi, J., Fernandes, L. A., Caldas, H. C., Abbud-Filho, M., Garcia, V. G., Baptista, M. A. (2011). Nonsurgical periodontal therapy combined with laser and photodynamic therapies for periodontal disease in immunosuppressed rats. *Transplant Proc*, 43(5), 2009-2016.
173. Garcia, V. G., Longo, M., Fernandes, L. A., Gualberto, E. C., Jr., Santinoni Cdos, S., Bosco, A. F., Nagata, M. J, Theodoro, L. H. (2013). Treatment of experimental periodontitis in rats using repeated adjunctive antimicrobial photodynamic therapy. *Lasers Med Sci*, 28(1), 143-150.
174. Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
175. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193(1), 265-275.
176. Kaynak, D., Meffert, R., Bostanci, H., Gunhan, O., Ozkaya, O. G. (2003). A histopathological investigation on the effect of systemic administration of the bisphosphonate alendronate on resorptive phase following mucoperiosteal flap surgery in the rat mandible. *J Periodontol*, 74(9), 1348-1354.
177. Kaynak, D., Meffert, R., Gunhan, M., Gunhan, O., Ozkaya, O. (2000). A histopathological investigation on the effects of the bisphosphonate alendronate on resorptive phase following mucoperiosteal flap surgery in the mandible of rats. *J Periodontol*, 71(5), 790-796.

178. Lucinda, L. M., de Oliveira, T. T., Salvador, P. A., Peters, V. M., Reis, J. E., Guerra Mde, O. (2010). Radiographic evidence of mandibular osteoporosis improvement in Wistar rats treated with Ginkgo biloba. *Phytother Res*, 24(2), 264-267.
179. Weinberg, M. A., Bral, M. (1999). Laboratory animal models in periodontology. *J Clin Periodontol*, 26(6), 335-340.
180. Struillou, X., Boutigny, H., Soueidan, A., Layrolle, P. (2010). Experimental animal models in periodontology: a review. *Open Dent J*, 4, 37-47.
181. Jordan, H. V. (1971). Rodent model systems in periodontal disease research. *J Dent Res*, 50(2), 236-242.
182. Listgarten, M. A. (1975). Similarity of epithelial relationships in the gingiva of rat and man. *J Periodontol*, 46(11), 677-680.
183. Takata, T., Nikai, H., Ijuhin, N., Okamoto, H. (1986). Ultrastructure of regenerated junctional epithelium after surgery of the rat molar gingiva. *J Periodontol*, 57(12), 776-783.
184. Fernandes, L. A., Martins, T. M., de Almeida, J. M., Theodoro, L. H., Garcia, V. G. (2010). Radiographic assessment of photodynamic therapy as an adjunctive treatment on induced periodontitis in immunosuppressed rats. *J Appl Oral Sci*, 18(3), 237-243.
185. Tomofuji, T., Ekuni, D., Irie, K., Azuma, T., Endo, Y., Tamaki, N., Sanbe, T., Murakami, J., Yamamoto, T., Morita, M. (2009). Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis. *J Periodontol*, 80(11), 1799-1808.
186. Kuhr, A., Popa-Wagner, A., Schmoll, H., Schwahn, C., Kocher, T. (2004). Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J Periodontal Res*, 39(2), 101-106.
187. de Lima, V., Bezerra, M. M., de Menezes Alencar, V. B., Vidal, F. D., da Rocha, F. A., de Castro Brito, G. A., de Albuquerque Ribeiro, R. (2000). Effects of chlorpromazine on alveolar bone loss in experimental periodontal disease in rats. *Eur J Oral Sci*, 108(2), 123-129.
188. Garcia, V. G., Fernandes, L. A., de Almeida, J. M., Bosco, A. F., Nagata, M. J., Martins, T. M., Okamoto, T., Theodoro, L. H. (2010). Comparison

- between laser therapy and non-surgical therapy for periodontitis in rats treated with dexamethasone. *Lasers Med Sci*, 25(2), 197-206.
189. Garcia, V. G., Gualberto Junior, E. C., Fernandes, L. A., Bosco, A. F., Hitomi Nagata, M. J., Casatti, C. A., Ervolino, E., Theodoro, L. H. (2013). Adjunctive antimicrobial photodynamic treatment of experimentally induced periodontitis in rats with ovariectomy. *J Periodontol*, 84(4), 556-565.
 190. Toker, H., Ozdemir, H., Eren, K., Ozer, H., Sahin, G. (2009). N-acetylcysteine, a thiol antioxidant, decreases alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*, 80(4), 672-678.
 191. Sallay, K., Sanavi, F., Ring, I., Pham, P., Behling, U. H., Nowotny, A. (1982). Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. *J Periodontal Res*, 17(3), 263-274.
 192. Darby, I. (2009). Non-surgical management of periodontal disease. *Aust Dent J*, 54 Suppl 1, S86-95.
 193. Rabbani, G. M., Ash, M. M., Jr., Caffesse, R. G. (1981). The effectiveness of subgingival scaling and root planing in calculus removal. *J Periodontol*, 52(3), 119-123.
 194. Adriaens, P. A., Adriaens, L. M. (2004). Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontol 2000*, 36, 121-145.
 195. Fontana, C. R., Kurachi, C., Mendonca, C. R., Bagnato, V. S. (2004). Microbial reduction in periodontal pockets under exposition of a medium power diode laser: an experimental study in rats. *Lasers Surg Med*, 35(4), 263-268.
 196. Giannopoulou, C., Cappuyns, I., Cancela, J., Cionca, N., Mombelli, A. (2012). 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*, 83(8), 1018-1027.
 197. De Micheli, G., de Andrade, A. K., Alves, V. T., Seto, M., Pannuti, C. M., Cai, S. (2011). Efficacy of high intensity diode laser as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized controlled trial. *Lasers Med Sci*, 26(1), 43-48.

198. Slot, D. E., Jorritsma, K. H., Cobb, C. M., Van der Weijden, G. A. (2014). The effect of the thermal diode laser (wavelength 808-980nm) in non-surgical periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*, 41(7):681-92.
199. Marcaccini, A. M., Meschiari, C. A., Zuardi, L. R., de Sousa, T. S., Taba, M., Jr., Teofilo, J. M., Jacob-Ferreira, A. L., Tanus-Santos, J. E., Novaes, A. B. Jr, Gerlach, R. F. (2010). Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. *J Clin Periodontol*, 37(2), 180-190.
200. Assuma, R., Oates, T., Cochran, D., Amar, S., Graves, D. T. (1998). IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol*, 160(1), 403-409.
201. Delima, A. J., Oates, T., Assuma, R., Schwartz, Z., Cochran, D., Amar, S., Graves, D. T. (2001). Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol*, 28(3), 233-240.
202. Belibasakis, G. N., Bostanci, N. (2012). The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol*, 39(3), 239-248.
203. Liu, D., Xu, J. K., Figliomeni, L., Huang, L., Pavlos, N. J., Rogers, M., Tan, A., Price, P., Zheng, M. H. (2003). Expression of RANKL and OPG mRNA in periodontal disease: possible involvement in bone destruction. *Int J Mol Med*, 11(1), 17-21.
204. Borrajo, J. L., Varela, L. G., Castro, G. L., Rodriguez-Nunez, I., Torreira, M. G. (2004). Diode laser (980 nm) as adjunct to scaling and root planing. *Photomed Laser Surg*, 22(6), 509-512.
205. Ustun, K., Erciyas, K., Sezer, U., Senyurt, S. Z., Gundogar, H., Ustun, O., Öztuzcu, S. (2014). Clinical and biochemical effects of 810 nm diode laser as an adjunct to periodontal therapy: a randomized split-mouth clinical trial. *Photomed Laser Surg*, 32(2), 61-66.
206. Gavish, L., Perez, L. S., Reissman, P., Gertz, S. D. (2008). Irradiation with 780 nm diode laser attenuates inflammatory cytokines but upregulates nitric

- oxide in lipopolysaccharide-stimulated macrophages: implications for the prevention of aneurysm progression. *Lasers Surg Med*, 40(5), 371-378.
207. Theodoro, L. H., Caiado, R. C., Longo, M., Novaes, V. C., Zanini, N. A., Ervolino, E., de Almeida, J. M., Garcia, V. G. (2014). Effectiveness of the diode laser in the treatment of ligature-induced periodontitis in rats: a histopathological, histometric, and immunohistochemical study. *Lasers Med Sci*, 15 Nisan 2014, Yayınlanmak üzere kabul edilmiştir..
208. Saglam, M., Kantarci, A., Dundar, N., Hakki, S. S. (2014). Clinical and biochemical effects of diode laser as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis: a randomized, controlled clinical trial. *Lasers Med Sci*, 29(1), 37-46.
209. Meschiari, C. A., Marcaccini, A. M., Santos Moura, B. C., Zuardi, L. R., Tanus-Santos, J. E., Gerlach, R. F. (2013). Salivary MMPs, TIMPs, and MPO levels in periodontal disease patients and controls. *Clin Chim Acta*, 421, 140-146.
210. Balasubramaniam, A. S., Thomas, L. J., Ramakrishnan, T., Ambalavanan, N. (2014). Short-term effects of nonsurgical periodontal treatment with and without use of diode laser (980 nm) on serum levels of reactive oxygen metabolites and clinical periodontal parameters in patients with chronic periodontitis: a randomized controlled trial. *Quintessence Int*, 45(3), 193-201.
211. Dukic, W., Bago, I., Aurer, A., Roguljic, M. (2013). Clinical effectiveness of diode laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized clinical study. *J Periodontol*, 84(8), 1111-1117.
212. George, A. K., Janam, P. (2013). The short-term effects of non-surgical periodontal therapy on the circulating levels of interleukin-6 and C-reactive protein in patients with chronic periodontitis. *J Indian Soc Periodontol*, 17(1), 36-41.
213. Patil, V. A., Desai, M. H. (2013). Effect of periodontal therapy on serum C-reactive protein levels in patients with gingivitis and chronic periodontitis: a clinicobiochemical study. *J Contemp Dent Pract*, 14(2), 233-237.
214. Arregoces, F. E., Uriza, C. L., Porras, J. V., Camargo, M. B., Morales, A. R. (2014). Relation between ultra-sensitive C-reactive protein, diabetes and

- periodontal disease in patients with and without myocardial infarction. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 58(4), 362-368.
215. Llambes, F., Silvestre, F. J., Hernandez-Mijares, A., Guiha, R., Bautista, D., Caffesse, R. (2012). Effect of periodontal disease and non surgical periodontal treatment on C-reactive protein. Evaluation of type 1 diabetic patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 17(4), e562-568.
216. Ioannidou, E., Malekzadeh, T., Dongari-Bagtzoglou, A. (2006). Effect of periodontal treatment on serum C-reactive protein levels: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*, 77(10), 1635-1642.

EK

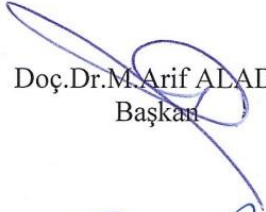
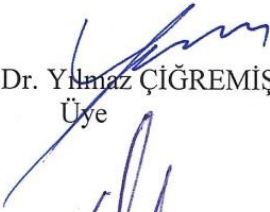
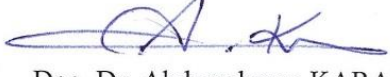

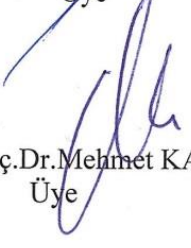
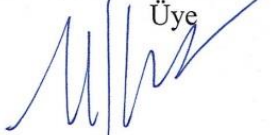




İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 07-02-2013
 Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
 Araştırma Protokol no.su : 2013/A-13
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Ratus novencicus
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar Albino
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 90 Adet
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 150-200 gram

Diş Hekimliği Fakültesi Öğretim Üyelerinden Yrd.Doç.Dr.Abubekir Eltas'ın yürütücüsü olduğu "Deneysel periodontitisli ratlarda diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesine ilaveten uygulanan düşük doz lazer tedavisi ve diyet lazer uygulamalarının histomorfometrik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkileri" isimli 2013/A-13 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

 Doç.Dr.M.Arif ALADAĞ Başkan	 Doç. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ Üye	 Doç. Dr. Abdurrahman KARAMAN Üye
 Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	 Yrd.Doç.Dr.Mehmet KARATAŞ Üye	 Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye
 Salih AVCI Sivil Üye	 Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU Sivil Üye	



T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi

Deney Hayvanları Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : B.30.2.İNÜ.0.20.05.05/11

Konu : 2013/A-13 nolu çalışma

MALATYA

04/06/2014

Sayın: Doç.Dr.Abubekir ELTAS
Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD

2013-/A-13 protokol nolu "Deneysel periodontitisli ratlarda diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesine ilaveten uygulanan düşük doz lazer tedavisi ve diyet lazer uygulamalarının histomorfometrik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkileri" İsimli projenizde aşağıda belirtilen değişikliklerin yapılması Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı tarafınca uygun görülmüştür.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Değişiklikler;

- I. Üç grup olarak planlanan çalışmada düşük doz diyet lazer uygulanacak olan grup çalışmadan çıkarılmıştır.
- II. Çalışma için gerekli hayvan sayısı 90 adetten 60 adete düşmüştür.
- III. Çalışma isminde düşük doz diyet lazer uygulaması çıkarılarak "*Deneysel Periodontitisli Ratlarda Diş Yüzeyi Temizliği ve Kök Yüzeyi Düzleştirilmesine İlaveten Uygulanan Diyet Lazer Uygulamasının Histomorfometrik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri*" olarak değiştirilmiştir (Tez öneri formundaki bu değişiklik sağlık bilimleri enstitüsüne bildirilmiştir).

Doç. Dr. M. Arif ALADAĞ
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Trabzon'da doğdum. İlköğrenimimi Dumlupınar İlköğretim Okulunda, ortaöğrenim ve lise öğrenimimi ise Trabzon Kanuni Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2004 yılında Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ni kazandım. 2009 yılında mezun olduktan sonra 2010 yılında İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda, Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'yla ortak yürütülen doktora eğitimime başladım ve halen aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak devam etmekteyim.