

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Periodontoloji Anabilim Dalı

Danışman
PROF. DR. HASAN MERİÇ

**YÜZEYEL UYGULANAN DOKSİSİKLİN
HİDROKLORÜR'ÜN PERİODONTAL
HASTALIKTAN ETKİLENMİŞ KÖK
YÜZEYLERİ ÜZERİNDEKİ İN - VİTRO
ETKİLERİ**

DOKTORA TEZİ

Dişhekimisi
KORKUD DEMİREL

İSTANBUL - 1992

Mezuniyet sonrası eğitimim süresince beni her alanda aydınlatan, destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen sevgili hocam **Hasan Meriç'e,**

Gerek yurtiçi gerekse yurtdışı çalışmalarımın gerçekleşmesinde sonsuz katkıları ve desteği olan, periodontolojiyi sevmemi sağlayan sayın hocam **Peker Sandallı'ya,**

Eğitimim süresince bilgi, görgü ve deneyiminden sıklıkla yararlandığım, kürsü başkanım sayın hocam **özen Tuncer'e,**

Hoşgörüsü ve deneyimi bana sunmaktan çekinmeyen sayın hocam **Utku Onan'a**

Her fırsatta bilgi ve deneyimini benimle paylaşan sayın hocam **Ahmet Efeoğlu'na**

Beraber çalışmamıza rağmen danıştığım her konuda beni aydınlatan sayın hocam **Selçuk Yılmaz'a**

Sabır ve iyi niyetleri ile bana katlanmayı başaran sevgili **çalışma arkadaşlarıma,**

Yurt dışı çalışmalarımda bana sonsuz destek veren sevgili hocam **Paul Baer'e**

Çalışmalarımda bilgilerinden ve laboratuvarlarından yararlandığım **B.Gomes, T.MacNamara, L.Taichman, J.Gwinnette, V.Iacono ve D.Cox'a**

ve
bilimsel çalışmalarım için her şeyi ile bana destek olan

NEVİN DEMİREL'e

Teşekkürlerimi sunmayı borç bilirim.

İ Ç İ N D E K İ L E R

Sayfa

Giriş.....	1
Gereç ve yöntem.....	30
Bulgular.....	39
Tartışma.....	53
Sonuçlar.....	67
Özet.....	70
Kaynakça.....	74
Ekler.....	83
özgeçmiş.....	84

K I S A L T M A L A R

B	Bukkal
DB	Disto-Bukkal
DEK	Dişeti Epiteli Keratinositi
DF	Dişeti Fibroblastı
DL	Disto-Lingual
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
FN	Fibronektin
FTO	Fibroblast Transfer Ortamı
FYO	Fibroblast Yetiştirme Ortamı
HCl	Hidrojen Klorür
KTO	Keratinosit Transfer Ortamı
KYO	Keratinosit Yetiştirme Ortamı
L	Lingual
LM	Laminin
MB	Mesio-Bukkal
ML	Mesio-Lingual
PMF	Periodontal Membran Fibroblastı
TEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TFC	Tamponlanmış Fosfat Çözeltisi
TTS	Tetrasiklin



G İ R İ Ş

Periodontal hastalıklar günümüzde çok sayıda insanı etkilemektedir(74). Hastalığın gelişimi aşamalar halinde seyreder. İltihabi karakterde olan periodontal hastalıklarda ,iltihap destek dokulara yayılmayıp dişeti dokusu ile sınırlı kaldığı durumlarda gingivitis olarak isimlendirilmektedir. Dişe destek dokuların da etkilenmesi durumunda ise periodontal membran, sement harabiyeti ve alveol kemiği kaybı ile klinik bir tablo oluşturur. Bu durum periodontitis olarak isimlendirilir.

Gingivitislerin ve periodontitislerin etyolojisinde genel ve yerel etkenler önemlidir. Genel etkenler hastanın sistemik sağlık durumu ile ilgilidir. Yerel etkenler ise periodontal dokularda iltihabi başlatan ve/veya şiddetini arttıran etkenlerdir. Bu etkenlerin arasında en önemli rolü oynayan mikrobiyal plak,dolayısı ile mikroorganizmalardır(46.47). Mikroorganizmaların hastalığın gelişiminde etkin rolü göz önüne alındığında gingivitislerin ve periodontitislerin enfeksiyöz karakterde hastalıklar olduğu kabul edilebilir(70) Bu kanıyı destekleyen en önemli bulgular şöyle sıralanabilir:

- Yapılan çalışmalarda deneysel olarak gingivitis başlatılabilmiş ve\veya olan periodontitisin şiddeti arttırılabilmıştır(46.47),
- Periodontitisler tedavi yöntemleri açısından değerlendirildiğinde, ortamdaki mikroorganizmaların sayısının azaltılması ya da tamamen ortadan kaldırılması hastalığın ilerlemesini yavaşlatmakta ya da durdurmaktadır(64),
- Mikrobiyal plağın patojenik olduğu in-vivo ve in-vitro ortamlarda kanıtlanmıştır(40.69).

Periodontitislerin tedavisi incelendiğinde, uygulanan yöntemler amaçları açısından iki ana grupta toplanabilir. Bunlardan birincisi hastalığın hızının ve şiddetinin kontrol altına alınması ve durdurulmasını hedefleyen yaklaşımdır⁽¹⁹⁾.Diğeri ise durdurulan hastalığın periodontal dokularda yol açtığı yıkımın onarılması ve periodonsiyumun regenerasyonudur⁽¹⁹⁾.

Gingivitis ve periodontitislerde, hastalığın kontrol altına alınması ve durdurulması için izlenecek yöntem diğer enfeksiyöz karakterde olan hastalıklar için seçilen yöntemlerden farklı değildir⁽¹⁶⁾.

Bu amaçla:

- 1- Enfeksiyona yol açan mikroorganizmaların ve topluluklarının ortamdaki uzaklaştırılması veya sayılarının azaltılması,
- 2- Enfeksiyon kaynağının ortadan kaldırılması veya kontrol altına alınması ile iltihabın nüksünün önlenmesi,
- 3- iltihabın ortadan kalkmasını sağlayacak yeni bir ortam yaratılması,
- 4- Konak faktörlerinin dikkate alınması,
- 5- Gereken durumlarda antibakteriyel ajanların tedaviye destek olmak amacıyla kullanılması,

şerekmektedir.

Tedaviyi desteklemek amacıyla kullanılacak antimikrobiyal ajanın seçimi, sözkonusu ajanın iltihapta rol oynanayan mikroorganizmalar üzerindeki etkisine bağlı olmakla beraber, ajanın diğer farmakolojik özelliklerine de bağlıdır⁽¹⁶⁾.Başarılı bir antimikrobiyal tedavinin önemli koşulu,antimikrobiyal ajanın iltihabın olduğu bölgede yüksek

konsantrasyonlarda bulunabilmesidir. Ayrıca seçilecek ajanın gücü iltihabi kontrol altına alabilecek yeterlilikte ve yan etkilerinin de çok az yada ideal şartlarda hiç olmaması gerekmektedir.

Periodontolojide mekanik tedaviyi desteklemek amacı ile sistemik antibiyotik kullanımı prepubertal periodontitis, juvenil periodontitis, hızlı ilerleyen periodontitis ve tedaviye dirençli periodontitis olgularında yaygındır^(19,69). Bu amaçla tetrasiklinler, metrohidazol ve daha sınırlı olmakla beraber amoksisilin / klavulanik asit, klindamisin gibi antimikrobiyal ajanlar kullanılmışlardır⁽¹⁹⁾. Ancak TTS'ler periodontal patojen olduğu düşünülen mikroorganizma grupları üstünde etkili olmalarının yanı sıra^(6,81) antimikrobiyal etkilerini istenilen alana diğer antimikrobiyal ajanlara oranla 1-4 kat daha yoğun bir şekilde ulaştırmaları^(34,59), antienzimatik özellikleri^(29,30), nedeniyle araştırmacıların dikkatini daha çok çekmişlerdir.

TTS bakteriyostatik ajanlardır. Sadece bölünen mikroorganizmalar bu ajanlardan etkilenirler. Mikroorganizmaların TTS ve türevlerine gösterdiği duyarlılık türevlerin her biri için birbirine benzerdir⁽⁶⁵⁾. Genel olarak gram(+) mikroorganizmalar gram(-)'lere oranla daha düşük konsantrasyonlarda etkilenirler. Ancak gram(+) mikroorganizmaların oluşturdukları iltihabi durumlarda kısa sürede direnç oluşması nedeniyle daha çok gram(-) lerin oluşturdukları iltihabi durumlarda kullanılırlar. Başlangıçta aerobik gram(-) basillere karşı kullanılmalarına karşın günümüzde artık aerobik fakültatif mikroorganizmalar için kullanılmaktadırlar.

TS'ler etkilerini bakteri ribozomları üzerinde gösterirler⁽⁶⁵⁾. Ücre duvarını aşıp hücre içerisine girdikleri zaman protein sentezini engellerler ve özellikle 30S ribozomlarına tutunurlar. aminoacyl t-RNA'nın m-RNA-ribozom ikilisine ulaşmasını engelleyerek peptid zincirine yeni amino asitlerin eklenmesini durdururlar.

TS'lerin emilimi gastrointestinal kanalda gerçekleşir⁽⁶⁵⁾. Aç arına alınan klortetrasiklin %30; oksitetrasiklin, demoklosiklin, etrasiklin %60-80; doksisisiklin %95; minosiklin %100 oranında emilirler. Enterohepatik dolaşımları nedeni ile ilacın kesilmesinden önce bir süre sonra da dolaşımda bulunabilirler.

TS'ler idrar ve dışkı yolu ile atılırlar⁽⁶⁵⁾. En fazla miktarda atılım böbreklerden gerçekleşir. TTS türevleri içerisinde yalnız oksisisiklin dışkı yolu ile böbrek yolundan daha fazla atılmaktadır. Bu nedenle böbrek sorunları olan hastalarda kullanılacak en güvenli TTS türevidir.

TS'lerin gastrointestinal kanalda dozları arttıkça rahatsız edici etkileri gözlenebilir⁽⁶⁵⁾. Oral yoldan alınan tetrasiklinlerin oluşturdukları irritasyon diyareye neden olabilir. Demoklosiklin, oksisisiklin ve daha az oranlarda diğer türevler güneş gören deride ototoksik etkiler gösterebilirler. Yüksek konsantrasyonlarda hepatoksik etkiler gözlenebilir. Özellikle hamile kadınlarda karaciğer hasarına yol açabilirler. Böbrek hastalığı olan bireylerde üremiye neden olabilirler. Bu yan etki en düşük olarak doksisisiklinde gözlenmektedir. Kalsifiye dokularda birikme özelliği nedeni

ile çocuklarda süt ve sürekli dişlerde renk değişimine neden olurlar.

TTS ve türevleri amfoterik özelliktedir⁽³⁰⁾. Asidik ve bazik çözeltilerde kolaylıkla çözünürler. Sulu çözeltilerde çözünen TTS'ler yüksek düzeyde floresan özelliği taşırlar.

Periodontal literatürde sistemik kullanımın yanısıra yerel TTS kullanımı 1979 sonrası çalışmalarda sıklıkla işlenmiştir. Dişeti oluşu içerisine yerel tetrasiklin uygulamasının ilk örneğini veren araştırmacı grubu yaptıkları çalışmada selüloz asetatın hazırlanmış çapı 200µm olan diyaliz borucuklarının içerisine 314µg/cm TTS-ICI yerleştirerek bu borucukları dişeti oluşu içerisine uygulamışlardır⁽³¹⁾. TTS'in borucuklardan geri salınımı ile ilgili yaptıkları değerlendirmelerde 0,5 saatte yerleştirilen ilacın %50 sinin 2 saatte ise %95'inin uygulandığı ortama geri verildiğini saptamışlardır. Buna karşın 24 saatin sonunda bile yaklaşık 15 µg/ml düzeyinde TTS varlığını dişeti oluşu likitinde gözlemlemişlerdir. Gerçekleştirdikleri karanlık alan mikroskobu çalışmasında dişeti oluşu mikrobiyal florasında spiroketlerin uygulamadan sonra ortadan kalktığını ve iki haftalık süre boyunca tekrar spiroketlere rastlanmadığını saptamışlardır.

Taşıyıcı borucuk kullanımı yerine, taşıyıcının yapısına TTS'lerin yerleştirilmesi düşüncesi yine aynı araştırmacılardan gelmiştir⁽³²⁾. Çalışmalarında doku uyumu gösteren polimerlerden polietilen, polipropilen, polikaprolatan, poliüretan, selüloz asetat pro-

ionat ve etilen vinil asetat taşıyıcılarına %25 oranında aktif TTS araştırılarak hazırlanan monolitik fibriller gerek in-vitro, gerekse in-vivo koşullarda incelenmiştir. In-vitro deneyin sonuçlarına göre etilen vinil asetat dışındaki tüm polimerler birinci günün sonunda taşıdıkları TTS'in tamamını ortamama verirlerken, etilen vinil asetat taşıyıcısı 9 gün boyunca TTS'in ortama geri salınımını gerçekleştirmiştir. Bu bulgulara paralel sonuçlar 5 mm derinliğinde periodontal ceplere yerleştirilen monolitik fibriller ile de elde edilmiştir. Çalışmada üzerinde ısrarla durulan nokta %25 TTS - HCl e %75 etilen vinil asetat karışımından hazırlanan monolitik fibriller aracılığı ile 9 gün boyunca en az 50 ug/ml konsantrasyonunda TTS-HCl'ün ortama geri salınımının gerçekleştiğidir.

rdından yine aynı araştırma merkezi diştaşı temizliği ile birlikte lokal TTS uygulamasını gündeme getirmişlerdir⁽³³⁾. Çalışmalarında mm ataşman kaybı olan bireylerde sadece diştaşı temizliği ya da diştaşı temizliğine ek olarak tetrasiklin ile hazırlanmış monolitik fibril ve TTS yüklenmiş diyaliz borucuklarını karşılaştırmışlardır. diyaliz borucuklarının 24 saatlik süre sonunda ortama verdikleri TS-HCl'ün konsantrasyonu 15 ug/ml olarak saptanırken etilen vinil asetat %75 - TTS %25 karışımından hazırlanan fibrillerin 10. günün sonunda ortalama 643 ug/ml konsantrasyonunda TTS'i ortama verdikleri gözlemlenmiştir. Mikrobiyolojik değerlendirmelerde, kombine tedavi sonucu periodontal mikrobiyotada saptanan spiroket sayısındaki azalmanın sadece diştaşı temizliği uygulanan bölgelere oranla daha yüksek olduğu ancak tedavi yöntemleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar saptanmadığı belirtilmiştir.

taşıyıcı madde olarak etilen vinil asetat yerine atelokollagen film kullanımı başka bir araştırmacı grubu tarafından denenmiştir (50,51). Gerçekleştirdikleri ilk çalışmada çapraz bağlantılı kollagen filmlere 1/1 oranında TTS karıştırarak 4-8 mm derinliğindeki periodontal ceplerin içerisine uygulamışlardır(50). Bu uygulamanın ardından dişeti oluşu likitinden örnekleme yaparak, taşıyıcı filmde ortama geri salınan TTS'in antimikrobiyal etkilerini in vitro koşullarda incelemişlerdir. Kollagen film taşıyıcı ile uygulanan TTS, uygulamayı izleyen onuncu günde dişeti oluşu likitinde 7-180ug/ml konsantrasyonunda saptanmıştır. Daha sonraki çalışmaları ise 4 mm'den daha derin periodontal ceplerde kollagen taşıyıcı ile TTS uygulamasının klinik ve mikrobiyolojik sonuçlarını değerlendirmişlerdir (51). Çalışmada ağız bakımı eğitimi verilmemiş bireylerde yerel TTS uygulamasından önce ve sonra mikrobiyal plak indeksi, gingival indeks, sondalama derinliği, sondalamada kanama ve faz - kontrast mikroskopunda hareketli çomaklar ve spiroketlerin yoğunluğu değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda deney gurubunda 3-4 haftalara kadar uzanan bir süre boyunca sondalamada kanamada anlamlı azalmalar saptanırken plak ve gingival indeks değerlerinde kontrol gurubu ile kıyaslandığında anlamlı azalmalar gözlenmemiştir. Hareketli çomak ve spiroketlerin sayısında 3 haftalık süre boyunca anlamlı azalmalar saptanmıştır. Araştırmacılar kollagen film ile uygulanan TTS'in 2-3 hafta boyunca gerek klinik gerekse bakteriyolojik açıdan etkin bir şekilde uygulandığı ortama geri salınımının gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

aynı grup araştırmacı ardışık yerel TTS uygulamalarının etkinliğini

e araştırmışlardır (52). Bu çalışmalarında birer hafta ara ile 4 ez kollagen film taşıyıcısı ile hazırlanan TTS - HCl, 4 mm ve daha erin periodontal cepler içerisine uygulanmıştır. Çalışmanın sonuarı, sondalamada kanama indeksinin 4 ile 7. haftalar arasında başlangıç değeri ile kıyaslandığında anlamlı azalmalar gösterdiğini rtaya koymuştur. Mikrobiyolojik değerlendirmelerde de koloni oluşuran bakteri sayısında belirgin azalmalar gözlenmiştir. Özellikle iyah pigmentli Bacteroides grubunda ve spiroketlerin sayısında 4- . haftalar arasında, başlangıç değeri ile karşılaştırıldığında namlı azalmalar saptamışlardır.

erekleştirilen bir diğer in-vitro çalışmada, bioabsorbable madde- ere yüklenen TTS'in etki süresi ve etkinliği incelenmiştir(45). Bu alışmada doksisisiklin akrilik şeritlere polimerizasyon sırasında 30 oranında yerleştirilmiştir. Diğer deney grupları ise Surgicel, ollacote ve Tissel'den oluşan taşıyıcı maddelerin %2'lik doksisisik- in ozeltisinde çeşitli srelerde bekletilmesi ile oluşturulmuştur n - vitro koşullarda serum fizyolojik veya insan serumu içerisinde 0 gün inkübe edilen örnekler, gerek ortama bıraktıkları doksisisik- in, gerekse salınan TTS miktarının antibakteriyel özellikleri aı- ndan değerlendirilmişlerdir. Serum içerisinde inkübe edilen akri- ik şeritler kısmen, Surgicel ise 2. günde tamamen rezorbe olmuştur acelenen taşıyıcılardan Surgicel ve Tissel hem ortama bıraktları oksisisiklin miktarı, hem de bu salınımın yol açtığı antibakteriyel tki açısından diğer deney gruplarından üstün bulunmuştur.

aşka bir grup araştırmacı gerçekleştirdikleri in - vivo çalışmada

TS yüklenen etilen vinil asetat fibrilleri ile subgingival TTS irigasyonunun etkilerini karşılaştırmışlardır (79). irigasyonun rdından dişeti oluşu likitinde saptanabilen TTS düzeylerinde logaritmik bir azalma gözlenmiştir. Monolitik fibriller ise 10 gün boyunca ortalama 1590 ug/ml konsantrasyonunda TTS'i ortama bırakışlardır. Çalışmada dikkati çeken bir nokta taşıyıcı fibrillerin eriodontal cep içerisinden uzaklaştırılmasını takiben dişeti oluşu ikitinde saptanabilen TTS konsantrasyonundaki azalmanın, irriasyon örneklerinde gözlemlendiği gibi logaritmik özellikler taşımasıdır.

erel TTS uygulamaları için kullanılan bir diğer taşıyıcı madde beyaz petrolatumdur. Beyaz petrolatum visköz kıvamda yarı katı bir addedir. Genellikle dermatoloji ve oftalmolojide ilacın ortama avaş salınımı için taşıyıcı madde olarak kullanılmaktadır. Yapılan ir başka çalışmada beyaz petrolatuma %40 oranında TTS - HCl karışırılmışlardır (24). Orta ve ileri şiddette periodontitisli bireyler alışmaya alınmışlar ve denekler 4 ana gruba ayrılarak ya sadece beyaz petrolatum - TTS karışımı, ya beyaz petralotum tek baına, veya diştaşı temizliği / kök yüzeyi düzleştirilmesi işlemi uygulanmıştır. Hiçbir işlem uygulanmayan örnekler ise kontrol rubunu oluşturmuşlardır. Beyaz petrolatum periodontal cep içerisine irigasyon şırıngası ile uygulanarak ilacın dişeti oluşu likiine salınımı 1, 8, 24, 72 ve 168. saatlerde incelenmiştir. Bunun anısına klinik parametreler ve subgingival flora bakterilerinin orfotipik değerlendirmeleri 0, 2, 4, 8, 12. haftalarda gerçekleştirilmiştir. Dişeti oluşu likitinde TTS en az üç gün boyunca saptan-

abilmiş ve belirlenen konsantrasyonun ortalama değeri 115,8 ug/ml olarak bulunmuştur. Aynı zamanda başlangıç günü değerleri ile kıyaslandığında yerel TTS uygulaması sondalama derinliklerinde ve sondalamada kanama indeksinde belirgin azalmalara neden olmuştur. hareketli çomakların ve spiroketlerin sayısında azalma saptanırken okların sayısında artma gözlenmiştir. Benzer bulgular diştaşı temizliği / kök yüzeyi düzleştirmesi uygulanan örneklerde de kaydedilmiştir. Araştırmacılar yerel TTS uygulamasının tek başına diştaşı temizliği / kök yüzeyi düzleştirilme işleminin yerine geçemeyeceğini ancak subgingival mikrobiyal plak kontrolünde etkin bir yöntem olduğunu vurgulamışlardır.

Gerçekleştirilen bir başka çalışmada TTS ile hazırlanmış kollagen filmler II. derecede furkasyon defektlerine uygulanmıştır (53). Çalışma 4 grup üzerinde gerçekleştirilmiştir. Gruplar; yalnız TTS/kollagen film uygulanan örnekler, kök yüzeyi düzleştirmesi uygulanan örnekler, mekanik tedavinin yerel TTS uygulaması ile desteklenmiş örnekler ve kontrol örneklerinden oluşturulmuştur. 0, 4, 6, 8 ve 8.haftalarda mikrobiyal plak indeksi, gingival indeks, sondalamada kanama, sondalama derinliği ve mikrobiyolojik değerlendirmeler gerçekleştirilmiştir. Gerek kök yüzeyi düzleştirilen örneklerde, gerekse kombine tedavi uygulanan örneklerde sondalama derinliğinde ve mikrobiyal topluluğun yoğunluğunda belirgin azalmalar gözlemlenmiştir. Kombine tedavi uygulanan grupta dikkati çeken nokta ise sondalamada kanamada belirgin bir azalmanın ve klinik ataşman düzeyinde anlamlı bir kazancın görülmesidir. Çalışmacılar bulgularını kök yüzeyi düzleştirmesinin furkasyon defektlerinin tedavisinde

etkin bir yöntem olduğu, ve yerel TTS uygulamasının elde edilen sonuçları olumlu yönde etkileyebileceği şeklinde yorumlamışlardır.

Polimetil metakrilat taşıyıcı maddesi ile periodontal cep içerisine uygulanan klorheksidin, metronidazole, ve TTS'nin etkilerini inceleyen bir çalışmada, uygulamaların etkisi subgingival mikrobiyolojik sayımlarla gerçekleştirilmiştir (40). 1/1 oranında taşıyıcı ile karıştırılan ilaç örnekleri kök yüzeyi düzleştirme işlemleri uygulanarak veya uygulanmadan periodontal cepler içerisine yerleştirildikten sonra bu bölgeler periodontal pat ile 1 hafta boyunca kapalı tutulmuştur. Çalışma sonunda klorheksidinin subgingival mikrobiyotanın yapısını değiştirmedeği, metronidazolün ise kısmen etkili olduğu saptanmıştır. TTS uygulanan gruplarda ise belirgin bir şekilde subgingival mikrobiyotanın etkilendiği ancak TTS'e duyarlı mikroorganizmaların sayısında da dikkate değer artışlar olduğu saptanmıştır.

Yerel ilaç kullanımının bir başka şekli ise irrigasyon yolu ile ilacın arzu edilen bölgeye iletilmesidir. Pek sık olmamakla birlikte TTS çözeltileri periodontal cep içerisine irrigasyon yolu ile de uygulanmışlardır.

TTS'lerin subgingival irrigasyonunu konu alan bir çalışmada 6 mm' den daha derin periodontal ceplerde klorheksidin, TTS veya serum fizyolojik ile uygulanan kök yüzeyi düzleştirme işleminin etkinliği klinik parametreler ve karanlık alan mikroskopisi ile değerlendirilmiştir (41). Araştırmacıların elde ettiği bulgular kemoterapötik-

lerle gerçekleştirilen irrigasyonun iyileşme üzerinde etkisi olmadığını göstermektedir. Bunun yanısıra tedaviyi takip eden 6 aylık süre boyunca spiroketlerin mikrobiyal plaktaki yoğunluğunun tedavi öncesi düzeye ulaşmadığı çalışmanın bulguları arasında yer almaktadır.

TTS çözeltilerinin irrigasyon çözeltisi olarak kullanılmasına diğer bir örnek çalışmada ise araştırmacılar çalışma grubunu sondalama derinliği ortalama 5,6 mm olan erişkin periodontitisli bireylerden oluşturmuşlardır⁽⁶⁷⁾. Deney gruplarına serum fizyolojik irrigasyonu, TTS (5 mg/ml) irrigasyonu, diştaşı temizliği / kök yüzeyi düzeltirmesi işlemlerinden yalnız biri uygulanmıştır. Kontrollü olarak gerçekleştirilen çalışmada irrigasyon işlemleri her 48 saatte bir 2 hafta boyunca; mekanik tedavi ise başlangıç değerlendirmelerinden hemen sonra uygulanmıştır. Klinik ve mikrobiyolojik yöntemlerle yapılan değerlendirmeler subgingival TTS irrigasyonunun subgingival mikroflorada mekanik tedaviye benzer etkiler oluşturduğunu ortaya koymuştur. Ancak araştırmacılar mekanik tedavi yapılmaksızın subgingival TTS irrigasyonunu önermemektedirler.

TTS irrigasyonunun konu edildiği bir diğer çalışmada araştırmacılar %1 ve %10'luk 20 ml TTS çözeltisi ile gerçekleştirilen irrigasyonun etkilerini in-situ koşullarda incelemişlerdir⁽⁷⁹⁾. özel irrigasyon arıngası ile yaklaşık 5 dakika boyunca uygulanan TTS çözeltisinin eliminasyonu dişeti oluşu likitinden alınan örneklerde araştırılmıştır. %10'luk konsantrasyonda yapılan irrigasyonun ardından dişeti oluşu likitinde 4. günde yaklaşık 10 ug/ml konsantrasyonunda

TTS'e rastlanmıştır. Araştırmacılar irrigasyonun ardından dişeti oluşu likitindeki TTS konsantrasyonundaki düşüşün logaritmik özellikler taşıdığını ve %10'luk TTS irrigasyonunu izleyen 66 saat boyunca dişeti oluşundaki TTS konsantrasyonunun ağız mikrobiyotasındaki bakterilerin %90'ını inhibe edici konsantrasyonda bulunduğunu bildirmişlerdir.

Buraya kadar sözü edilen çalışmaların felsefesinde TTS'lerin anti-bakteriyel ve antienzimatik özelliklerinden hedef dokularda daha fazla yararlanmak yatmaktadır. TTS'lerin suda çözüldükleri zaman oluşturdukları asidik çözeltiler ve mineralize dokularda CaCO_3 ve hidroksiapatite bağlanma özellikleri yerel TTS kullanımına yeni bir boyut getirmiştir. Doğrudan kök yüzeyine uygulanan TTS çözeltilerinin yüzeye bağlandığı ve değişen sürelerle biyolojik aktif yapıda eri salınımının saptanması ve asidik özellikleri nedeni ile yüzey apısını etkilemeleri, kök yüzeylerine TTS'in yerel olarak uygulanması için yeni bir gerekçe oluşturmuştur. Bu konuda yapılan çalışmalara değinmeden önce periodontal hastalıktan etkilenmiş kök yüzeylerinin yapısının kısaca gözden geçirilmesi gerekmektedir.

Periodontal hastalıktan etkilenmiş kök yüzeylerinin sitotoksik etkileri uzun zamandan beri bilinmektedir (4.36). Lipopolisakkarit apısında olan endotoksinlerin periodontal hastalıktan etkilenmiş köklerde sementin yapısında bulunduğu konusundaki görüşlere, sağlam emellere dayanmamakla birlikte, '80 öncesi yayınlarda rastlanmaktadır(20). Daha sonraki yıllarda bazı araştırmacılar sementin apısında 10 um. derinliğe kadar endotoksinin varlığını ileri

ürerken (21), diğer bir grup araştırmacı bu bulguların seçilen araştırma yöntemlerindeki teknik hatalardan kaynaklandığını ve gerekte endotoksinin sementin yapısına penetre olmadığını, yüzeye utunduğunu ve bu tutunmanın tahmin edildiği kadar da güçlü olmadığını ortaya koymuştur(1,42,54). Hastalıktan etkilenmiş sementin üzey özelliklerini inceleyen temel çalışmalarda, bağlantı epitelinin apikale göç ettiği bölgelerde açığa çıkan sement yüzeyinin bir aplama ile maskelendiğini ve bu yüzey kaplamasının kuronale idildikçe kalınlaştığını ortaya koymuştur (25) ve sözü edilen üzey kaplamasının mineralize olduğu daha sonraki araştırmalarda elgelenmiştir (26). Mikroorganizmaların sementin derin katmanlarında ve hatta dentin içerisinde varlığınının saptanması (2), apılan kök yüzeyi düzleştirme işlemlerine rağmen dişin derin atmanlarında mikroorganizmaların varlığının belirlenmesi (3), üzleştirme işleminden sonra eser miktarda lipopolisakkaritlerin ök yüzeyinde saptanması (15), kök yüzeyi düzleştirme işlemlerinin tkiliğinin ve amaçlarının yeniden gözden geçirilmesine neden lmuştur. Kök yüzeyi düzleştirme işleminin temel amacı biyolojik larak kabul edilebilirliği yüksek kök yüzeyleri oluşturmaktır. Bu ekanik işlemin etkinliğini arttırmak amacı ile yüzeylerin kimyasal e biyolojik yöntemlerle işlenmesi uygulamanın sonucunu olumlu önde etkilemektedir (19).

ullanılan kimyasal yöntemlerin başında sitrik asit veya TTS çö- eltileri ile kök yüzeylerinin demineralizasyonu gelmektedir(16). iyolojik uygulamalar ise daha çok ekstrasellüler matriks protein- eri ve polipeptit büyüme faktörleri üzerinde odaklanmıştır (77).

Yüzeyel TTS uygulamasının diş dokularına etkileri üç ana başlık altında incelenebilir:

- I.Yüzeyel uygulanan TTS'lerin kök yüzeylerine bağlanması ve ortama geri salınımı,
- II.Asidik özellikler taşıyan TTS çözeltilerinin kök yüzeyi topografyasında yol açtığı değişimler,
- III.Yüzeyel TTS uygulamalarının kök yüzeyi üzerindeki sitolojik etkileri.

I.Yüzeyel uygulanan TTS'lerin kök yüzeylerine bağlanması ve ortama geri salınımı:

TTS'lerin kök yüzeyine uygulanması hakkında gerçekleştirilen ilk in - vitro çalışmada TTS, trotrisin, vankomisin, spiramisin, kanamisin, neomisin ve aktinobolin sülfat'ın sıgır dişleri üzerinde plak oluşumunu engelleme yeteneği değerlendirilmiştir(7). Çalışmada 4x8x2 mm boyutlarında hazırlanmış diş örnekleri steril insan tükürüğü ile kaplanıp çeşitli antibiyotik çözeltileri içerisinde iki dakika bekletilmişlerdir. Ardından A.viscosus, A.naeslundii ile ekilen buyyon içerisinde yerleştirilen diş örnekleri 24 saat inkübe edilmişlerdir. Diş örneği üzerine tutunan ve kültür ortamında serbest olarak bulunan mikroorganizmalar sayısal açıdan değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçları gerek mikrobiyal plak oluşumunun, gerekse buyyon içerisinde mikroorganizma yoğunluğundaki artışın en etkin bir şekilde TTS'ler tarafından engellendiğini ortaya koymuştur.

TS molekülünün hidroksiapatit kristalleri ile oluşturdukları bağlantının yapısı başka bir çalışmanın konusu olmuştur⁽⁹⁾. Çekilmiş insan dişleri 0,5 - 20 mg/ml konsantrasyonlarındaki TTS çözeltileri içerisinde 24 saat bekletildikten sonra kesitleri alınmış, floresan mikroskopu ve mikroradyografi teknikleri ile incelenmişlerdir. Değerlendirilen örneklerde mine ve dentin demineralizasyonu, dentinde daha fazla olmak üzere mine ve dentinde floresan madde varlığı, yüksek konsantrasyonlarda diş yüzeylerinde sarı-düzensiz kristal yapılanımı saptanmıştır. Araştırmacı bulgularını mine ve dentinle TTS arasındaki bağlantının fizyokimyasal yollarla gerçekleştiği şeklinde yorumlamıştır.

Ardından yayınlanan bir başka çalışmada 0,01/ 0,1/ 1,0/ 10 mg/ml konsantrasyonlarındaki çeşitli TTS çözeltilerinde farklı sürelerle bekletilen sağlıklı mine ve dentin örneklerinin bakteri kolonizasyonunu engelleme potansiyeli in-vitro koşullarda incelenmiştir⁽¹⁰⁾. En düşük konsantrasyonlardaki TTS çözeltileri dışındaki diğer konsantrasyonlarda bekletilen mine ve dentin örnekleri, bekletilme süreleri ve TTS yoğunluğu ile doğru orantılı genişlikte inhibisyon alanları oluşturmuşlardır. Dentin örnekleri ile elde edilen inhibisyon alanları, mine örneklerinin oluşturduklarından daha geniş olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak enenen TTS türevleri arasında doksisisiklinin, seçilen araştırma koşulları altında en etkili TTS türevi olduğunu belirtmişlerdir.

Mine ve dentine bağlanan TTS'lerin antibakteriyel etkilerinin in vitro ortamlarda ortaya konulmasından sonra aynı grup araştırmacı

antibakteriyel etkinin süresini belirlemeye çalışmışlardır (11). Bu amaçla gerçekleştirdikleri in-vitro çalışmada insanlardan elde ettikleri sağlıklı mine ve dentin örneklerini 0,01/ 0,1/ 1,0/ 10 ng/ml konsantrasyonlarındaki çeşitli TTS çözeltilerinde 24 saat bekletmişlerdir. Ardından örnekleri ya kurutarak 200 gün saklamışlar; veya 30 dakika, 24 saat, 5 gün boyunca yıkadıktan sonra kurutarak 200 gün bekletmişler; ya da 35 güne varan değişik sürelerle sürekli yıkamışlardır. Bu şekilde hazırlanan örnekler S.sanguis ile ekilmiş agar üzerine yerleştirilip, oluşturdukları antibakteriyel etki değerlendirilmiştir. Her üç grupta yıkama ve kurutma işlemleri örneklerin ekilmiş agar üzerinde oluşturduğu antibakteriyel etkinin azalmasına neden olmakla birlikte, grupların hiçbirinde bekletilme şekli ne olursa olsun, bu etki tamamen ortadan kalkmamıştır. Çalışmacılar denenen TTS türevleri içinde doksisisiklin grubuna ait örneklerin 35 günlük sürekli yıkama işlemine rağmen, antibakteriyel kapasitelerinin ancak %50'sini yitirdiğini belirtmişlerdir.

Özet olarak yayınlanan in-vitro bir çalışmada, sığır dişlerinden elde edilen dentin örneklerinin 0,5 um/ml - 200 mg/ml arasındakileri seyreltilmiş TTS çözeltileri içerisinde 3 - 5 dakika bekletilmesini takiben yerleştirildikleri A.naeslundii ile ekilmiş buyyonda oluşturdukları antibakteriyel etki değerlendirmiştir (12). Dentin örneklerinin yüzeylerinde mikroorganizma çoğalmasının ortama salınan TTS nedeniyle inhibe edildiğinin belirlendiği çalışmada, dentin örneklerinin TTS çözeltisinde 3 veya 5 dakika bekletilmesinin sonucu değiştirmedeği araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır.

TS çözeltisinde dinlendirilen dentin örneklerinin ağız içi bakteri remesi üzerinde olan etkisi de incelenmiştir⁽¹²⁾. Bu çalışmada insan küçükazılarından elde edilen sağlıklı dentin örnekleri 10 g/ml konsantrasyonundaki doksisisiklin çözeltisinde 10 dakika bekletildikten sonra ortodontik bantlar yardımı ile üst çene büyük azı işlerine bağlanmışlardır. Kontrollu olarak gerçekleştirilen çalışmada, ağız ortamına yerleştirilen örnekler 2, 24 ve 120. saatlerde ağız ortamlarından çıkarılarak üzerilerindeki mikroorganizma popülasyonunun sayısal değerlendirilmesi yapılmıştır. Kontrol örnekleri ile kıyaslandığında, doksisisiklinde dinlendirilen dentin parçalarının yüzeylerine daha az mikroorganizma tutunduğu belirlenmiştir. Özellikle 2 ve 24. saatlerde ağız ortamından uzaklaştırılan örneklerde istatistiksel anlam taşırken, 120. saat örneklerinde kontrol grubu ile aralarındaki fark anlamlı değildir. Çalışma in-vivo koşullarda TTS'lerin bağlandıkları yüzeylerden uygulandıkları ortama biyolojik olarak aktif bir yapıda geri salınımını ortaya koymasından dolayı iyi bir örnek oluşturmaktadır.

TS'lerin uygulandıkları dentin yüzeylerine bağlanma yeteneklerinin geri salınımının incelendiği bir diğer çalışmada sığır dişlerinden elde edilen dentin örnekleri 10, 25, 50, 75, 100, 150 ve 200 g/ml konsantrasyonlarındaki ³H-TTS-HCl çözeltilerinde beş dakika ekletilmişlerdir⁽¹³⁾. TTS'in bağlandığı yüzeylerden geri salınım miktarı radyoaktif işaretleme yöntemi ile değerlendirilmiştir. 50 g/ml konsantrasyonu üzerindeki TTS çözeltilerinin dentine bağlanma potansiyelleri 4,7 ug/mm² olarak belirlenmiştir. Bağlandığı dentin yüzeylerinden ortama salınan TTS düzeyi uygulamadan hemen

onra yaklaşık 20 ug/ml olarak belirlenirken, 48 saat sonra bu düzey 4,2 ug/ml olarak tesbit edilmiştir. Ortama salınan TTS'in iyolojik aktivitesi ise, TTS'de dinlendirilen dentin örneklerinin .naeslundii ekilen buyyon içerisine yerleştirilip, dentin örnekleri yüzeyinde ve kültür sıvısında üreyen mikroorganizma topluluğunun sayısal açıdan değerlendirilmesi ile belirlenmiştir. Çalışmanın u bölümünde dentin yüzeyinde ve buyyon içerisinde üreyen mikroorganizmaların sayısında belirgin azalmalar gözlenmiştir. Araştırmacılar bu sonuçları, TTS'lerin mikroorganizma üremesini inhibe edici etkisinin bakterilerin yüzeylere tutunmasını engellemesinden çok, antibakteriyel özelliklerinden kaynaklandığı şeklinde yorumlamışlardır.

TTS'in dentine bağlanma şekli de incelenmiştir (17). Bu çalışmada ürmemiş yirmi yaş dişlerinden hazırlanan örneklerin dentin kanallıklarından geçirilen ^{45}Ca , technetium-99m, $^3\text{H-TTS-HCl}$ çözeltilerinin, kanalcıklardan geçerken uğradıkları konsantrasyon kaybı değerlendirilmiştir. ^{45}Ca çözeltilisini %100, $^3\text{H-TTS-HCl}$ çözeltilisi 55-75, technetium-99m çözeltilisi %0 konsantrasyon kaybına uğraştır. Bağlandıkları dentin yapısından ortama geri salınımları incelendiğinde TTS'in bazik çözeltiler ve su ile bağlandığı yüzeylerden çözündüğü ve çözünme hızının çözücü maddenin akış hızı ile doğru orantılı olduğu ortaya konmuştur. Su ve bazik çözeltilerin her ikisinde de TTS'lerin çözünmesi araştırmacılar tarafından dentin - TTS bağlantısının özgün olmayan bağlarla gerçekleştiği ve geri dönüşümlü olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

TTS'lerin periodontal hastalıktan etkilenmiş insan sementine tutunmasını inceleyen bir çalışmada 1, 10, 50, 100mg/ml konsantrasyonlarındaki doksisisiklin çözeltileri 3 dakika sement ve dentin örneklerine uygulanmış ve ardından örnekler çeşitli sürelerle insan serumu içinde inkübe edilmişlerdir⁽²³⁾. inkübasyon süresinin sonunda üç değişik mikroorganizma ile ekilen agar üzerine yerleştirilen örnekler oluşturdukları inhibisyon alanlarının genişlikleri açısından değerlendirilmiştir. Araştırmacılar dentin örneklerinin oluşturdukları inhibisyon alanlarının sement grubundan daha geniş olmasına karşın aralarında istatistiksel açıdan anlamlı farkların olmadığını belirtmişlerdir. Çalışmada örneklerin 14 günlük serum içinde inkübasyonu sonucu ortama salınan doksisisiklinin miktarında azalma olduğu gösterilmiş ve denenen konsantrasyonlar arasında 100 mg/ml nin en etkin konsantrasyon olduğu vurgulanmıştır.

uraya kadar sözü edilen çalışmalardan elde edilen ortak bulgular öyle özetlenebilir:

- . TTS çözeltilerinde bekletilen mine ve dentin örneklerinin yüzeylerine TTS molekülü bağlanabilmektedir,
- . Yüzeyle bağlanan TTS miktarı uygulanan TTS çözeltisinin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır,
- . TTS'nin geri salınımının süresi, uygulanan çözeltinin konsantrasyonuna, uygulama süresine ve geri salınımın gerçekleştiği ortama bağlıdır,
- . Mine, dentin ve sement örneklerine yüzeyel uygulama ile bağlanan TTS in - vitro ve in - vivo koşullarda biyolojik aktivitesini koruyarak yerleştirildiği ortama geri salınmaktadır,

e. Periodontal hastalıktan etkilenmiş insan sementine ve dentinine yüzeysel uygulanan TSS eşit miktarlarda bağlanabilmektedir.

II. Asidik özellikler taşıyan tetrasiklin çözeltilerinin kök yüzeyi topografyasında yol açtığı değişimler:

Bu konu ile ilgili yayınlanan ilk özet çalışmada bir yan bulgu olarak 1 mg/ml konsantrasyonundaki (pH 3) TTS çözeltisinin siğir dişlerinden elde edilen dentin yüzeyinden pelikülü kısmen uzaklaştırdığı, 10 mg/ml (pH 2,5) ve daha yüksek konsantrasyonlarda ise pelikülün dentin yüzeyinden tamamen kaldırıldığı bildirilmiştir^(e).

Daha kapsamlı bir başka çalışmada yine yan bulgu olarak TTS çözeltilerinin yüzeysel uygulanmalarında yüzey topografyasına etkileri incelenmiştir^(e3). Siğir dişlerinden hazırlanan dentin örneklerinin yüzeyleri zımpara kağıdı ile düzleştirilmiş ve ardından 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 mg/ml konsantrasyonlarındaki TTS çözeltilerinde beş dakika bekletilmişlerdir. TEM ile incelenen kontrol örneklerinde zımparalamaya bağlı smear tabakası gözlemlenirken, TTS uygulanan örneklerde bu tabakanın ortadan kaldırıldığı ve dentin kanalcıklarının ağızlarının ortaya çıktığı belirlenmiştir. Araştırmacılar TTS uygulanan dentin yüzeylerinde gözlenen değişimin sitrik asit uygulamalarında belirlenen değişime benzediğini bildirmişlerdir.

Yüzeysel TTS uygulamasının dentin yüzeyinde yol açtığı değişimler, pelikül ve mikrobiyal plak oluşumu üzerindeki etkileri de incelenmiştir⁽¹³⁾. Çalışmada insan küçükazılarından hazırlanan sağlıklı

entin örnekleri 10 mg/ml (pH2,5) konsantrasyonundaki doksisiklin-Cl çözeltisi içinde 10 dakika bekletildikten sonra ortodontik raketler yardımı ile ağız içinde üst çene azı dişlere sabitlenmiştir. 2, 8, 24 ve 120. saatlerde ağız ortamından uzaklaştırılan örnekler dentinin yüzey özellikleri, pelikül ve mikrobiyal plak oluşumu açısından değerlendirilmiştir. Doksisiklin uygulamasının entin yüzeyinde asitle dağlanmaya benzer etkiler oluşturduğu 2. saat örneklerinde gözlemlenmiştir. 8. saat örneklerinde ise dentin üzerinde ince bir tabaka olduğu ancak bu tabakanın su ile yıkamada kolaylıkla ortadan kaldırıldığı saptanmıştır. 24. saat örneklerinde yüzeyde mikrobiyal plak benzeri bir oluşum saptanmakla birlikte aynı sürede ağız içerisinden çıkartılan kontrol örnekleri ile kıyaslandığında plak oluşumunun daha düzensiz ve sınırlı kaldığı belirlenmiştir. 120. saat örneklerinde ise kontrol grubunda çok elirgin mikrobiyal plak oluşumu saptanırken, doksisiklin uygulanan örneklerde bazı alanlarda dentin kanalcıklarının ağızlarının görülemediği ve mikrobiyal plak oluşumunun kümeler halinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Araştırmacı bulgularını dentin üzerine uyguladığı doksisiklin uygulamasının dentin yüzeyinde demineralizasyona yol açtığı, pelikül oluşumunu yavaşlatıp dentin yüzeyine tutunmasını bozduğu ve mikrobiyal plak oluşumunu geciktirdiği şeklinde yorumlamıştır.

üzeysel uygulanan TTS - HCl ve sitrik asitin kök dentininin yüzey özelliklerinde yol açtığı değişimlerin karşılaştırmalı olarak incelenmesi de araştırma konusu olmuştur (37). Sitrik asit (pH 1) ve TS (pH 3,5) dentin yüzeyinden smear tabakasını kaldırabilme, dentin

analçıklarının ağızlarını açığa çıkartabilme, ve peritübüler dentini demineralize edebilme yetenekleri açısından karşılaştırılmışlardır. TTS uygulanan örneklerde smear tabakasının çoğunlukla ortadan kalktığı, ancak zaman zaman yüzeyde organik artıklara rastandığı belirtilmiştir. Sitrik asit uygulamasından sonra ise smear tabakasının tamamen ortadan kalktığı gözlenmiştir. Her iki uygulama dentin kanallarını aynı oranda açığa çıkartmasına karşın morfolojik ölçümler sitrik asit uygulaması ile peritübüler dentin demineralizasyonunun daha fazla olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmacılar TTS konsantrasyonunun dağlama yeteneği üzerinde etkili olabileceği ve daha yüksek konsantrasyonlarda farklı sonuçlar elde edilebileceğini bildirmişlerdir.

TTS çözeltilerinin dentin yüzeyinde yol açtığı topografik değişimler üzerinde odaklanan çalışmaların ortak noktaları şöyle özetlenebilir:

Dentin yüzeyinde oluşturulan smear tabakası yüzeyel TTS uygulamalarından etkilenmektedir. Bu etkileri konsantrasyonları, dolayısı ile pH'ları ile yakından ilgilidir.

Dentin yüzeyinde pelikül oluşumu yüzeyel TTS uygulamaları ile kısmen engellenebilmekte ve / veya pelikülün dentin yüzeyine tutunması zayıflatılabilmektedir.

I. Yüzeyel TTS uygulamalarının kök yüzeyi üzerindeki sitolojik etkileri:

Cre kültürü düzeyinde bu konuya ilk olarak değinen yayında 1, 100, 200 mg/ml konsantrasyonlarında TTS uygulanan sığır dentini

inin yüzeyine fibronektin (FN) ve laminin (LM)'in tutunma potansiyelleri değerlendirilmiştir (62). Beş dakikalık TTS uygulamasının ardından steril serum fizyolojik ile yıkanan örnekler ^{125}I -FN veya ^{251}I -LM ile 5, 10, 15, 30 dakika sığır serumu içeren hücre kültürü sıvısında inkübe edilmişlerdir. Epitel ve mezenkim kökenli hücrelerin uygulama sonrası dentin yüzeyine tutunma miktarlarının da değerlendirildiği çalışmada TTS uygulamasının yüzeye FN tutunmasını artırırken LM tutunmasını azalttığı, bunun yanısıra mezenkim kökenli hücrelerin epitel hücrelerine göre TTS uygulanan dentin yüzeyine daha fazla tutunduğu belirtilmiştir.

Yeni araştırmacı grubunun bir öncekinin devamı niteliğindeki çalışmasında sığır dişlerinden elde edilen dentin örnekleri üzerinde TTS uygulamasının FN, LM bağlanmasına; insan epitel ve bağ dokusu hücrelerinin dentin yüzeyine tutunması ve çoğalmasına etkileri değerlendirilmiştir (76). Dentin yüzeyine TTS uygulaması sonucu LM'nin yüzeye tutunmasında azalma gözlenirken, FN'in tutunmasında artma gözlemlenmiştir. Dentin yüzeyine FN tutunması 100mg/ml ve üstü konsantrasyonlarındaki TTS uygulamalarında en yüksek değerleri vermiştir. İnsan epitel ve fibroblast hücreleri ile gerçekleştirilen tutunma çalışmasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kontrol grubunda dentin yüzeylerine fibroblastlara oranla beş kat daha fazla tutunan epitel hücreleri, yüzeylere TTS + FN uygulamasının ardından fibroblastlara oranla daha az sayıda tutunmuşlardır. Hücrelerin tutunma hızları yüzeylerde çoğalma miktarının da incelendiği çalışmada kontrol örneklerinde epitel hücrelerinin daha hızlı çoğaldığı gözlemlenirken, deney örneklerinde fibroblastların çoğalma hızında

artma, epitel hücrelerinin çoğalma hızında azalma gözlenmiştir. Yapılan çalışmada dentin yüzeyine 50-100 mg/ml konsantrasyonlarında TTS çözeltilerinin 5 dakika uygulanmasının ardından FN (2,5 mg/ml) uygulamasının fibroblastların dentin yüzeylerine tutunmasını arttırdığı ortaya konmuştur. Araştırmacılar geliştirdikleri biyokimyasal yöntem ile dentin yüzeylerinin işlenmesinin hücre tutunması ve büyümesi üzerinde seçici özellikler yaratabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Aynı grup araştırmacı bu varsayımlarını sınamak için yeni bir araştırma yöntemi geliştirmişlerdir. Seçilmiş hücre migrasyonu yöntemi olarak isimlendirdikleri çalışmalarında hücrelerin kemotaktik faktörlere olan yanıtını biyokimyasal olarak işlenmiş dentin yüzeyleri ile hücre toplulukları arasına 8 u çapında gözenekleri olan filtre yerleştirerek incelenmiştir (78). Bu sayede hazırlanan dentin yüzeyine doğru olan hücre hareketleri incelenmiştir. Hücrelerin biyokimyasal olarak işlenmiş dentin yüzeyindeki hareketleri ise dentin yüzeyinin bir tarafının biyokimyasal yöntemle işlenmesi diğer tarafına ise deney hücrelerinin yerleştirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada fibroblastların FN ve endotelial hücre büyüme faktörüne doğru hareket ettiği ve dentin yüzeylerinin TTS + FN veya TTS + endotelial hücre büyüme faktörü ile işlenmesinin fibroblast göçünü ve çoğalmasını arttırdığı belirlenmiştir. Epitel hücrelerinin göçünün ve çoğalmasının ise dentin yüzeylerinin LM ile işlenmesi sonucu arttığı gözlemlenmiştir. Çalışmacılar hücrelerin bu şekilde yönlendirilmesi ile epitel hücreleri ile fibroblastların biyolojik yanıtını değiştirebilecek biyokimyasal uygula-

naların da farklı olduğunu göstermişlerdir.

Kök yüzeylerine uygulanan TTS'lerin in - vivo etkilerini ilk olarak değerlendiren çalışmada Beagle köpeklerinde periodontal defektler yaratmak için gerçekleştirilen periodontal cerrahi sırasında kök yüzeylerine uygulanan %1'lik TTS - HCl'ün (pH 2,6) yeni ataşman oluşumu üzerindeki etkileri incelenmiştir (18). Operasyonlardan altı ay sonra alınan blok kesitlerde bağ dokusu ataşmanının ortalama 3,1 mm kural yönde ilerlediği, buna karşın epitelin apikale göçüne rastlanmadığı bildirilmiştir. Yeni alveol kemiği yapımının kural yönde 1,8 mm ilerlediğinin saptandığı çalışmada kök rezorpsiyonu ve ankiloz ihmal edilebilecek kadar az gözlenmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri bulguların sitrik asit çalışmalarının sonuçlarına benzediğini, ancak artı değer olarak TTS'lerin antibakteriyel ve antienzimatik özelliklerinin olduğunu, bu nedenle kök yüzeyinin işlenmesinde sitrik asite alternatif oluşturduğunu belirtmişlerdir.

Bir yıl sonra bir başka çalışma grubu tarafından yayınlanan in vivo çalışmada ise dentin yüzeyine uygulanan TTS çözeltilerinin ara iyileşmesinin erken dönemdeki etkileri incelenmiştir (27). Dentin yüzeylerine 100 veya 200 mg/ml konsantrasyonlarında TTS çözeltileri uygulandıktan sonra, dentin örnekleri sıçan sırtlarına transkütan olarak implante edilmişlerdir. Bu örnekler 1. ve 10. günde implante edildikleri yerlerden çıkartılarak histometrik değerlendirilmeye alınmışlardır. Araştırmacılar TTS uygulanan dentin yüzeylerine yara iyileşmesinin erken döneminde tutunan bağ dokusu

ücrelerinin sayıca arttığını gözlemelerine karşın, baş dokusu fib- illerinin tutunmasında artış saptanamadığını bildirmişlerdir.

eriodontal hastalıktan etkilenmiş insan dişlerinde in-situ gerçek- eştirilen bir başka çalışmada periodontal cerrahi sırasında kök üzeylerine düzleştirme işlemi yapıldıktan sonra bir gruba yüzeysel TS (100 mg/ml), bir diğerine yüzeysel TTS + FN uygulanmış ve üçüncü grup da kontrol grubu olarak bırakılmıştır (5). Operasyonlardan 0 gün sonra kontrol ve deney örnekleri blok kesitler halinde çı- artılmış ve histojik yöntemlerle incelenmiştir. Kontrol örnekle - inde iyileşmenin uzun epitelyal bağlantı ile gerçekleştiği gözle - irken deney gruplarında ise az olmakla birlikte bir miktar re - taşman saptanmıştır. Çalışmanın en ilginç bulgusu ise TTS uygula - an örnek grubunda gözlenen baş dokusu ataşmanı artışının, TTS + FN rubundan daha fazla olmasıdır.

üzeysel uygulanan TTS'lerin sitolojik etkilerini inceleyen çalışma - arın sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde şu noktalar dik - at çekmektedir:

- . Yüzeylelerine TTS uygulanan dentin örneklerine FN in - vitro ortamlarda daha rahat tutunmaktadırlar.
- . TTS + FN veya TTS + LN uygulanan dentin yüzeyleri, in-vitro ortamlarda epitel ve mezenkim kaynaklı hücrelerin yüzeye tutunma ve göç yeteneğini yönlendirebilmektedir,
- . In-vivo çalışmaların sonuçları uyum göstermemektedir. Kimi ça - lışmalar TTS'nin kök yüzeyine uygulanmasının yeni ataşmana uygun ortam sağladığını iddia ederken, kimileri bu uyqulama ile an-

cak re-ataşman elde edilebileceğini ileri sürmektedir.

Önce gerçekleştirdiğimiz çalışmada periodontal hastalıktan etkilenmiş sement örneklerine yüzeysel uygulanan doksisisiklinin bağlandığını ve yerleştirildiği ortamda biyolojik olarak aktif yapıda geri salındığını belgelemiştik⁽²³⁾. Bu araştırmamızda elde edilen sonuçların ışığı altında ve periodontal tedavide yüzeysel tetrasiklin uygulaması ile ilgili yayınlar incelendiğinde bazı noktaların tam olarak araştırılmadığı gözlenmiştir. Araştırılmayan bu noktalar çalışmamızın amaçları olarak düşünülmüştür:

- Yüzeysel uygulanan tetrasiklinlerin sement topografyasında yol açtığı değişimler aynı örnekler üzerinde kontrollü olarak incelenmemiştir. Bu çalışmada periodontal hastalıktan etkilenmiş, yüzeyi düzleştirilmiş ve düzleştirilmemiş sement örneklerinin yüzey morfolojisinin asidik olan tetrasiklin çözeltilerinden nasıl etkilendiğinin taramalı elektron mikroskobu ile gözlenmesi hedeflenmiştir.
- Tetrasiklin uygulanan periodontal hastalıktan etkilenmiş sement yüzeylerine periodontal membran fibroblastlarının ve dişeti epiteli keratinositlerinin tutunma yeteneğinin karşılaştırılması ve bunun tetrasiklin çözeltilisinin asidik özelliğinden mi kaynaklandığı, yoksa tetrasiklin molekülünün bir bütün olarak hücre tutunmasında etken olup olmadığının in-vitro koşullarda incelenmesi amaçlanmıştır.



GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın iki boyutlu olması nedeni ile gereç ve yöntem iki ana başlık altında toplanmıştır. Bunlar taramalı elektron mikroskopisi tekniği ve hücre kültürü tekniğidir. Bu araştırma İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı ve New York Eyalet Üniversitesi, Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Ana Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

- Taramalı Elektron Mikroskopisi Yöntemi:

Çalışmanın bu bölümünde erişkin periodontitisi nedeni ile çekim endikasyonu konulmuş on adet tek köklü insan dişi kullanılmıştır. Örnek seçiminde aşağıdaki kriterler dikkate alınmıştır:

- . Seçilen dişin çevresindeki ML, L, DL, MB, B, DB sondalama noktalarının tamamında 5mm'yi geçen sondalama derinliği olması,
- . Dişe destek alveol kemiğinin %50 veya daha fazla kaybının radyografik olarak belirlenmesi,
- . Çekimden önceki üç aylık dönemde hastanın periodontal tedavi görmemiş olması,
- . Kök yüzeyinde çürük veya restorasyon bulunmaması,
- . Seçilen dişin endodontik tedavi görmemiş olması.

Çekimden hemen sonra dişler serum fizyolojik içerisinde yıkanıp, sterilizinceye kadar +4° C'da serum fizyolojik içerisinde saklanmışlardır. Daha sonra her diş düşük devirli, su soğutmalı elmas testere ile bukkal-lingual yönde dişin uzun eksenine paralel bir şekilde kesilmişlerdir. Elde edilen mesial parçalar kök yüzeylerine doksi-kinin uygulamasında deney grubunu oluştururken, distal parçalar da

ontrol, yani doksisisiklin uygulanmayan kök yüzeyleri olarak kullanılmışlardır. Ayrıca deney ve kontrol grupları düzleştirilmiş ve düzleştirilmemiş kök yüzeylerini içeren iki alt gruba ayrılmıştır. Kök yüzeylerinin yalnız aproksimal orta alanları düzleştirilmiş, böylece çevre alanlar düzleştirilmemiş kök yüzeyi grubunu oluşturur. Kök yüzeyi düzleştirme işlemi düşük büyütme (10x) bir dikey mikroskopu altında kullanılmamış 13/14 Columbia küretleri* ile on ardışık darbe uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler düzleştirme işleminden sonra yüzeylerine gevşek olarak tutunan arıkların uzaklaştırılması için 20 sn. serum fizyolojik içerisinde alkalanmışlardır.

00 mg/ml konsantrasyonundaki doksisisiklin çözeltisi, distile su içerisinde doksisisiklin - HCl (Sigma D-9891) eklenerek hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltinin pH'sı 2 olarak belirlenmiştir. Kontrol çözeltisi olarak serum fizyolojik seçilmiştir. Deney grubu örneklerinin herbiri 3'er dakikalık süreler ile ayrı ayrı 5 ml doksisisiklin çözeltisinde bekletildikten sonra 30 sn süre ile serum fizyolojik içinde çalkalanmışlardır.

Kök yüzeylerinin hazırlanmasından sonra örnekler kritik derecede kurutma işlemine alınmışlardır. Bu işlemin ilk aşamasında örnekler sırası ile %30, %50, %70 ve %90'lık etanol içerisinde 30'er dakika bekletilmişlerdir. Ardından %100 amyl asetat ve %100 etanol'ün 1/1 oranındaki karışımında 10 dakika bekletilmiş ve son olarak da %100

etanol içerisinde çalkalanmışlardır. ikinci ve son aşamada ise örnekler kritik derecede kurutma cihazına* yerleştirilip sıvı CO₂ ile işlem görmüşlerdir.

Tamamen suyu uçurulan örnekler alüminyum tablalar üzerinde sabitleştirildikten sonra kuronlarının en tepe noktasından ve en apikal noktalarından iletken gümüş boya yardımıyla alüminyum tabla ile bağlantıları sağlanmıştır. Ardından su soğutmalı anod ile donatılmış bir elektron atlatma cihazı* ile yüzeyleri altın tabaka ile iletken bir şekilde kaplanmıştır. örnekler Amray** TEM ile farklı büyütmelelerde incelenmiştir. Gözlemler Polaroid 52 tipinde filmlere kaydedilmiştir.

3- Hücre Kültürü Yöntemi:

Çalışma kapsamında kullanılan periodontal membran fibroblastları (PMF) ortodontik nedenlerle çekim endikasyonu konulmuş üst ikinci küçükazılardan elde edilmiştir. Yine aynı hastalardan imzalı olurları karşılığı alınan biyopsilerden de dişeti epiteli hücreleri, keratinositleri (DEK) üretilmiştir. Çalışmanın tamamında kullanılan hücreler beş ayrı bireyden alınarak tüm hücreler deney anında üçüncü pasajlarında olacak şekilde hazırlık yapılmış ve çalışmanın her aşaması beşer kez tekrarlanmıştır.

* Ladd Research Industries. Burlington, VT. A.B.D.

** Amray. Bedford, MA. A.B.D.

Sement örnekleri, erişkin perioditisi tanısı konulmuş bireylerin çekilen 30 sürekli dişinden elde edilmiştir. örnek seçiminde aşağıdaki klinik kriterler göz önüne alınmıştır.

1. Seçilecek dişin MB, B, DB, ML, L, DL bölgelerinin her birinde sondalama derinliklerinin 5 mm'yi geçiyor olması;
2. Dişe destek alveol kemiğinde %50 veya daha fazla kaybın radyolojik olarak kanıtlanması;
3. Çekimden önceki 6 aylık dönemde hastanın herhangi bir nedenle antibiyotik kullanmamış olması;
4. Çekimden önceki 3 aylık dönemde hastanın peridontal tedavi görmemiş olması;
5. Kök yüzeylerinde çürük ve restorasyon bulunmaması.

Sement örneklerinin hazırlanması:

Periodontal hastalıktan etkilenmiş dişler çekildikten hemen sonra ekletilmeden serum fizyolojik ile yıkanıp işlenilinceye kadar +4° 'da serum fizyolojik içerisinde saklanmışlardır. Çekimi yapılan dişler üzerinde bağlantı epitelinin en kural seviyesi, diseksiyon mikroskobu altında, çekimden sonra kök yüzeyinde arta kalan bağlantı artıkları rehber alınarak keskin bir bistüri ile işaretlenmiştir. İşaretlenen bu seviyenin kuralinde kalan kök bölgelerinden her diştten bir adet olmak üzere 2 mm kalınlığında kök parçaları su soğutmalı elmas testere* ile kesilerek hazırlanmıştır. Ardından bu örneklerin sement yüzeyleri kullanılmamış 13/14 Columbia küretleri

ile diseksiyon mikroskobu altında on ardışık darbe uygulanarak düzleştirilmiştir. Hazırlık aşaması tamamlanan örneklerin herbiri tamponlanmış fosfat çözeltisi (TFÇ) içeren ayrı ayrı tüpler içerisine konularak otoklavda sterilize edilmiştir. Hücre kültürü çalışmaları gerçekleştirilene kadar TFÇ içinde +4° C'da depolanmıştır.

-Dişeti epiteli keratinositlerinin hazırlanması:

Dişetinden alınan biyopsi örnekleri keratinosit transfer ortamı (KTO) (Ek-1) içine yerleştirilerek laboratuvara aktarılmışlardır. Örneklerin epitel içeren bölümleri diseksiyon mikroskobu altında bistüri yardımı ile altındaki bağ dokusundan olabildiğince ayrılmıştır. Hazırlanan bu epitel parçaları 1x1 mm'lik parçalara kesilerek KTO ile beş kez yıkanmıştır. Ardından bu parçalar petri kutuları içerisine yerleştirilip on dakika süre ile kurumaya bırakılmışlardır. Kuruyarak petri kutularının tabanına yapışan örneklerin üzerine KTO dikkatlice dökülmüştür. Petri kutuları +37° C'da %7 CO₂ ve %93 hava ortamında üç gün inkübe edilmişlerdir. Üçüncü günün sonunda petri kutularındaki KTO, keratinosit yetiştirme ortamı (KYO) (Ek-2) ile değiştirilmiştir. Petri kutularındaki KYO üç günde bir tazelenmiştir. Yedinci günün sonunda kültür ortamına yerleştirilen epitel parçalarından ilk keratinositlerin göç etmeye başladığı gözlenmiş ve 12. günün sonunda göç eden hücreler yeterli yoğunluğa ulaştığı için, hücrelerin birinci pasajları gerçekleştirilmiştir. Hücrelerin birinci pasajları yapılırken hücre ekimi sırasında kültür ortamına karışan bağ dokusu hücreleri ayırıcı enzimleme yöntemi ile ayrılmışlardır. Hücre ayrımı tamamlandıktan sonra elde edilen saf DEK'leri kültürü daha önceden hazırlanan ışınlanmış 3T3

Fibroblastları içeren petri kutularına mümkün olan en düşük yoğunluk ile ekilmişlerdir. Birinci pasajın sonunda ise DEK %90'lık yoğunluğa ulaştıklarında önce 3T3 hücrelerinden ayrılmış ardından hücre dondurma ortamı (Ek-3) içine 1×10^6 hücre/ml konsantrasyonunda alınıp -196°C 'da sıvı nitrojen içerisinde dondurularak saklanmıştır.

-Periodontal membran fibroblastlarının hazırlanması:

Ortodontik nedenlerle çekimi yapılan küçükazılar bekletilmeden fibroblast transfer ortamı (FTO) (Ek-4) na alınmıştır. Laboratuvarla steril şartlar altında beş kez aynı ortam içerisinde yıkandıktan sonra kök yüzeylerinin 1/3 orta bölümü keskin bir küret yardımı ile kazınarak çekim sonrası kök yüzeylerine yapışık kalan periodontal membran artıkları toplanmıştır. Kazınan bu artıklar petri kutusu içerisine dağınık bir şekilde yerleştirilip inkübatör içinde kurularak yapışması için on dakika bekletilmiştir. Yapışma sağlandıktan sonra petri kutularına FTO ilave edilerek $+37^\circ \text{C}$ 'da %7 CO_2 , %93 hava ortamında üç gün inkübe edilmişlerdir. Üçüncü günün sonunda FTO, fibroblast yetiştirme ortamı (FYO)(Ek-5) ile değiştirilip, her dört günde bir ortam tazelenerek 3 - 4 haftalık bir süre beklenilmiştir. Ağ dokusu parçalarından ilk PMF göç etmeye başlayıp yeterli yoğunluğa ulaştıklarında birinci pasajları gerçekleştirilmiştir. Birinci pasajın sonunda PMF'leri %90'lık yoğunluğa ulaştıklarında hücreler 1×10^6 hücre/ml konsantrasyonunda hücre dondurma ortamı içinde -196°C 'da sıvı nitrojen içinde dondurularak saklanmıştır.

Dondurulan hücreler deneyden 1-2 haftalık süre önce nitrojen banyo-

undan çıkartılarak çözülmüş ve ikinci pasajları gerçekleştirilmiştir. Hücreler 100 mm'lik petri kutularında %90'luk yoğunluğa ulaşıklarıında üçüncü pasajları yapılmış ve kültür ortamı $6,5 \times 10^6$ ücre/ml konsantrasyonuna getirilmişlerdir.

Kök yüzeyine hücre tutunma süresinin belirlenmesi:

u amaçla iki yöntem kullanılmıştır. önce sement yüzeylerine tutunan DEK ve PMF petri kutularına ekimlerini izleyen her yarım saatte bir elektronik hücre sayacı ile sayılmışlardır. Ardından kültür ortamından her saat başı çıkartılan sement örnekleri yüzeylerine tutunan hücrelerin morfolojisi açısından incelenmiştir. Bu gözlemler üç saatlik sürenin DEK ve PMF'nin tutunması için optimal olduğunu ortaya koymuştur.

Deney çözeltilerinin hazırlanması:

oksisiklin - HCl çözeltisi distile su içerisinde 100 mg/ml konsantrasyonunda saf doksiklin-HCl'den (Sigma D-9891) hazırlanmıştır. u şekilde elde edilen çözeltinin pH'ı 2 olarak belirlenmiştir. aynı pH'da HCl çözeltisi elde edebilmek için distile su içerisine uygun miktarlarda 12 N HCl eklenmiştir. Kontrol çözeltisi olarak FÇ (pH 7) kullanılmıştır.

Sement yüzeylerine hücre tutunması deneyi:

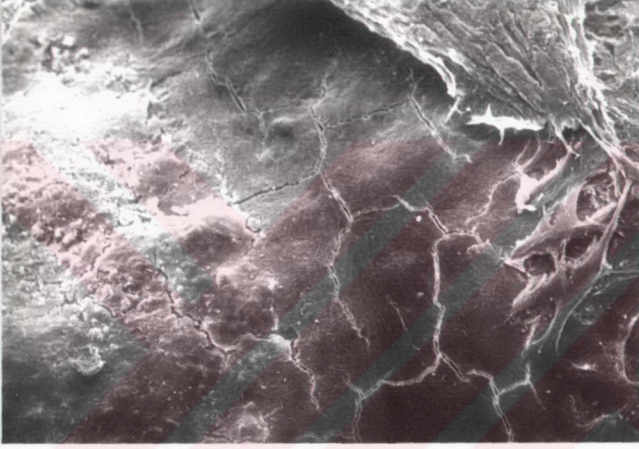
ement örnekleri beşerli gruplar halinde üçer dakika 5ml doksiklin - HCl, HCl veya TFC içerisinde bekletilmişlerdir. Ardından yarı ayrı 5 ml TFC içinde 30 sn çalkalanıp 24 hazneli bakteriyolojik petri kutularına aktarılmışlardır. Her hazne içerisine yerleş-

irilen sement örnekleri grupları belirtilecek şekilde işaretlenmişlerdir. Daha sonra örneklerin bulunduğu her hazneye 1 ml kültüre edilmiş hücreler $6,5 \times 10^6$ hücre / ml konsantrasyonunda plastik pipetler ile aktarılmışlardır. Deneyin bu aşamasında kullanılan hücre besi yerlerine antibiyotik ilavesi yapılmamıştır. Petri kutuları inkübatördeki 20° açı ile yatay yönde salınım yapan platform üzerine yerleştirilip 37° C'da %7 CO₂ ve %93 hava ortamında üç saat inkübe edilmişlerdir. inkübasyon süresi sonunda sement örnekleri petri kutularından çıkartılarak başka petri kutularına aktarılmışlardır. Gevşek tutunan hücrelerin ayrılması için TFÇ ile kısaca yıkılan örnekler yüzeylerine tutunan hücrelerin sayılabilmesi için ayrıştırma işlemine alınmış, PMF grubuna ait örnekler bu aşamada herbiri 2 ml TFÇ + EDTA çözeltisi içeren deney tüpleri içinde 5 dk. inkübe edilmişlerdir. DEK ise aynı yöntemle, ancak tripsin + EDTA + TFÇ ile inkübe edilmişlerdir. Bu yöntemle yüzeylerden ayrıştırılan hücrelerin parçalanmasını engellemek için her deney tüpüne 5. dakikada 8 ml hücre kültürü sıvısı eklenmiştir. Hücre içeren bu çözeltiler elektronik hücre sayacı ile üçer kez sayılmışlardır. Her örnek için yapılan bu üç sayımın aritmetik ortalaması, o örnek yüzeyine tutunan hücre sayısını temsil etmiştir. Daha sonra kök parçalarının çeperleri bilgisayarın okuyucu ucu ile taranarak çevrelerinin uzunluğunun birim değeri elde edilmiştir. Buradan da hücrelerin tutunmasına izin verilen çevre yüzeylerinin alanı hesaplanmıştır. Yüzeye tutunan toplam hücre sayısı, elde edilen yüzey alanının sayısal değerine bölündüğünde birim kare yüzeye tutunan hücre sayısı hesaplanmıştır. Sonuçlar çift yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir.



Taramalı elektron mikroskobu bulguları:

M çalışmasında gözlemlerimiz bağlantı epiteli artıklarının hemen ronalinde kalan, mikrobiyal plak içermeyen bölge üzerinde yoğun - ştirildi (Resim 1).



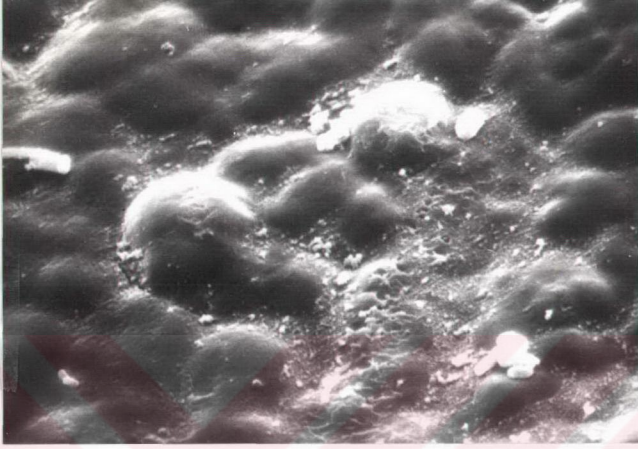
Resim 1: Periodontal cebin tabanı, gözlemlerin gerçekleştirildiği mikrobiyal plaktan yoksun alan. (x80)

riodontal hastalıktan etkilenmiş kök yüzeyleri:

k yüzeyi, sementin topografik özelliklerini maskeleyen bir tabaka e kaplanmış olarak gözlemlenmiştir (Resim 2a). Daha yüksek büyütme ile bakıldığında yüzeyde yumuşak hatlı küresel çıkıntılarının olduğu saptanmıştır (Resim 3). Bu yükseltilerin aralarında tek tek ya da koloniler halinde mikroorganizmaların varlığı dikkat çekmektedir. Bunların yanısıra yüzeyde çatlak hatlarına rastlanmıştır.



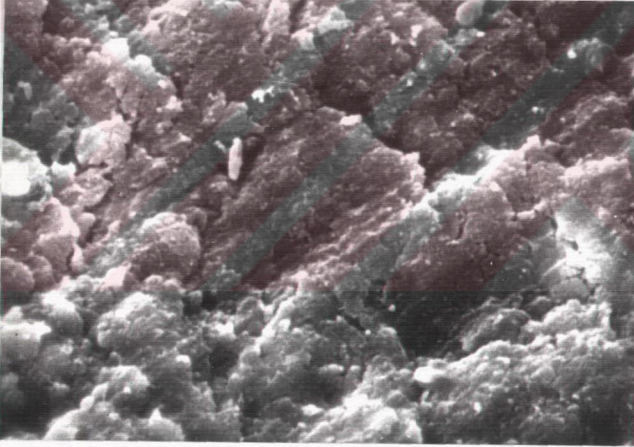
Resim 2a: Yüzeyi düzleştirilmiş / düzleştirilmemiş sement bölge-
lerinin birlikte görüntüsü. Doksisisiklin uygulanmayan bu örnekte sol
üst köşe düzleştirilmemiş, sağ alt köşe ise düzleştirilmiş sement
yüzeyini göstermektedir. (x1500)



Resim 3: Kök yüzeyi düzleştirilmemiş ve doksisisiklin uygulanmamış sement yüzeyi. Yüzeyin özelliklerini saklayan tabaka bu büyütmede daha belirgindir. Kok ve çomak morfortipindeki mikroorganizmalar ve artıkları küresel çıkıntılarının arasında birikmişlerdir. (x4000)

Periodontal hastalıktan etkilenmiş ve kök yüzeyi düzleştirme işlemi uygulanmış sement yüzeyleri:

Yüzeyin genel görünümü kök yüzeyi düzleştirme işleminde oluşan mekanik sürtünmeye bağlı gözlenen smear tabakasını düşündürmektedir (Resim 2a, 4). Küretin çalışma yönüne paralel, sürtünme işlemi nedeniyle oluşmuş çizgilenmeler ve oluklar mevcuttur. Resim 4'de bu oluşumlar daha açık olarak görülmektedir. Ayrıca küretin çalışma yönünü dik kesen yüzey çatlakları belirgindir. Bu çatlakların sürtünme geriliminden oluşan yüzey yırtılma hatları mı, yoksa kurutma işleminden kaynaklanan çatlaklar mı olduğu açıklık kazanmamıştır.

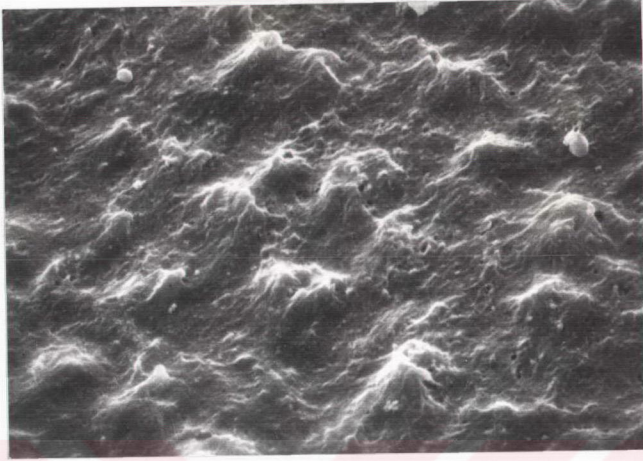


Resim 4: Kök yüzeyi düzleştirilmiş ancak doksisisiklin uygulanmamış sement yüzeyi. Sürtünme sonucu gelişen smear tabakası ve yüzey girintilerinin aralarında biriken mikroorganizmalar dikkat çekmektedir. (x4000)

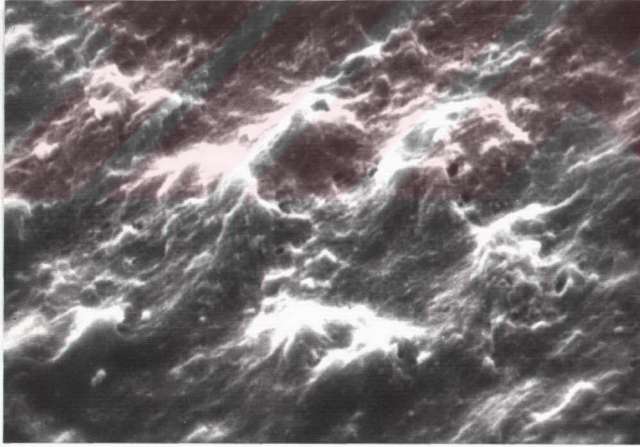
Periodontal hastalıktan etkilenmiş ve doksisisiklin uygulanmış kök yüzeyleri:

Kök yüzeyine doksisisiklin uygulanması sonucu yüzey morfolojisinde değişiklikler gözlenmiştir (Resim 2b, 5a,b). Periodontal hastalıktan etkilenmiş kök yüzeylerinde daha önce saptanan ve yüzey özelliklerini maskeleyen tabaka doksisisiklin uygulamasından sonra gözlenemektedir. Bu tabaka incelmış ya da tamamen ortadan kalkmış olabilir. Resim 3'de gözlenen yumuşak hatlı çıkıntılar yerlerini daha ivri, dağ görüntüsü veren çıkıntılara terk etmiştir (Resim 5a). Sement yüzeyinin pürüzsüz görünümü ortadan kalkmış, daha düzensiz bir yüzey izlenimi uyandırmaktadır. Daha yüksek büyütme ile bakıldığında yüzey yapısında liflerin olduğu izlenimini veren çizgiler -eler görülmektedir (Resim 5b).

Resim 2b: Kök yüzeyi düzleştirme işlemi uygulanmış / uygulanmamış sement yüzeyi. Sol üst köşede düzleştirilmiş, sağ alt köşede ise düzleştirilmemiş sement yüzeyi görülmektedir. (x1500)



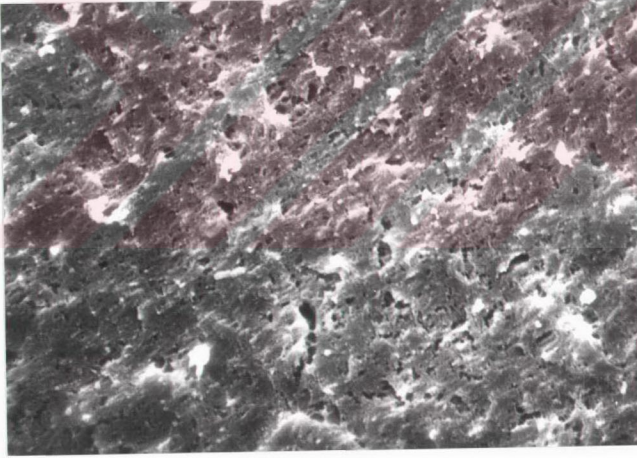
esim 5a: Periodontal hastalıktan etkilenmiş ve sadece yüzeysel dokisiklin uygulanmış sement yüzeyi. Düzensiz ve sivri sayılabilecek ıkıntılar yüzeyin genel karakterini oluşturmaktadır. Bu çıkıntılının çapları 3 - 4,5 u arasında değişmektedir. (x4000)



esim 5b: Aynı bölgenin daha yüksek büyütmesinde, yüzeyin lifsel apısı daha belirgindir. (x8000)

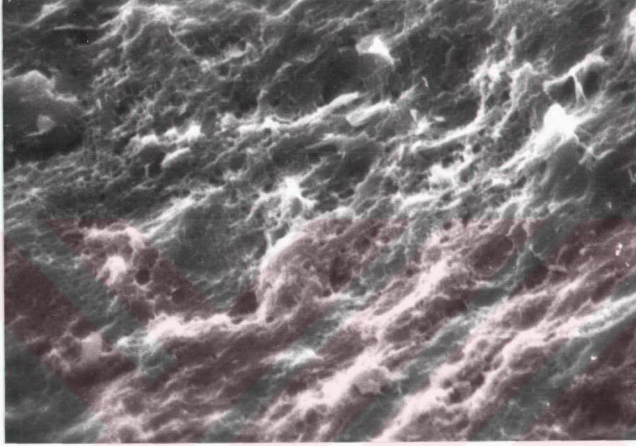
Periodontal hastalıktan etkilenmiş, yüzeyi düzleştirilmiş ve doksisisiklin uygulanmış sement örnekleri:

Yüzeyde birikinti tabakasının gözlenememesi sadece yüzeyi düzleştirilmiş örneklerle kıyaslandığında yüzeyden smear tabakasını andıran tabakanın kaldırıldığını ve/veya farklılaştırıldığını göstermektedir (Resim 2b, 6a,b). Küretin çalışma yönünü gösteren oluk ve çizgilenmelerin olmaması bu yaklaşımı desteklemektedir. Yüzey retiküler bir yapı ortaya koymaktadır. Daha yüksek büyütmede, yüzeyin matriksinin ortaya çıktığını düşündüren lifsel bir yapı görülmektedir (Resim 6b). Lifler demetler halinde olabildikleri gibi tek tek de gözlenebilmektedir. Ayrıca yüzeyde düzensiz lakünler görülmektedir.



Resim 6a: Periodontal hastalıktan etkilenmiş ve yüzeyi düzleştirildikten sonra doksisisiklin uygulanmış sement örneği. Yüzeyde gözlenen laküner alanların çapları 0,1 - 0,6 u arasında değişmektedir.

(x4000)



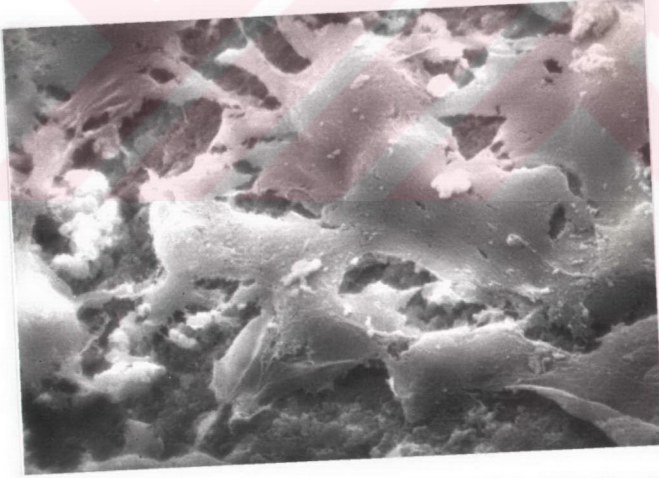
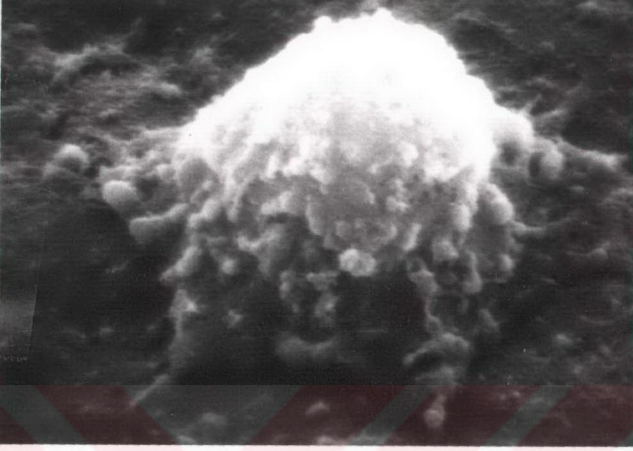
esim 6b: Aynı bölgenin daha yüksek büyütmesi. Yüzeý dađlanmıř iz-enimi uyandırmaktadır. Tek tek yada demetler halinde kollađen lif-er belirgindir. (x8000)

- Hücre kültürü çalışmasının bulguları:

ık yüzeyine hücre tutunması için gerekli optimal sürenin belirlenmesi için yapılan ön çalışmanın sonuçları tablo 7'de verilmiştir. 1 ön çalışmada kök yüzeylerine tutunan DEK ve PMF hücrelerinin ortalama değerleri birlikte değerlendirilmiştir. 2,5 saatlik inkübasyon süresince sürekli artma eğiliminde olan tutunan hücre miktarı, 0,5 - 3,5 saatleri arasında plato değeri oluşturduğu ve daha sonra düşmeye başladığı belirlenmiştir. Hücre tutunmasının en yüksek değeri 3. saatte elde edilmiş ve bu tutunmanın niteliği morfolojik olarak da belgelenmiştir (Resim 7). ön çalışmada elde edilen diğer bir bulgu ise hücre sıvısında yaratılan 20° lik yatay dalgalanma hareketinin hücre tutunmasını olumlu etkilediğinin belirlenmesidir. Daha geniş açılarla yaratılan dalgalanmalarda tutunan hücre sayısında azalmalar saptanmıştır.

Inkübasyon süresi(saat)	Tutunan hücre sayısı
0,5	210
1	460
1,5	600
2	690
2,5	710
3	740
3,5	720
4	620

Tablo 7: DEK ve PMF'nin optimal tutunma sürelerinin belirlendiği ön çalışmada elde edilen zaman - hücre tutunması ilişkisi.

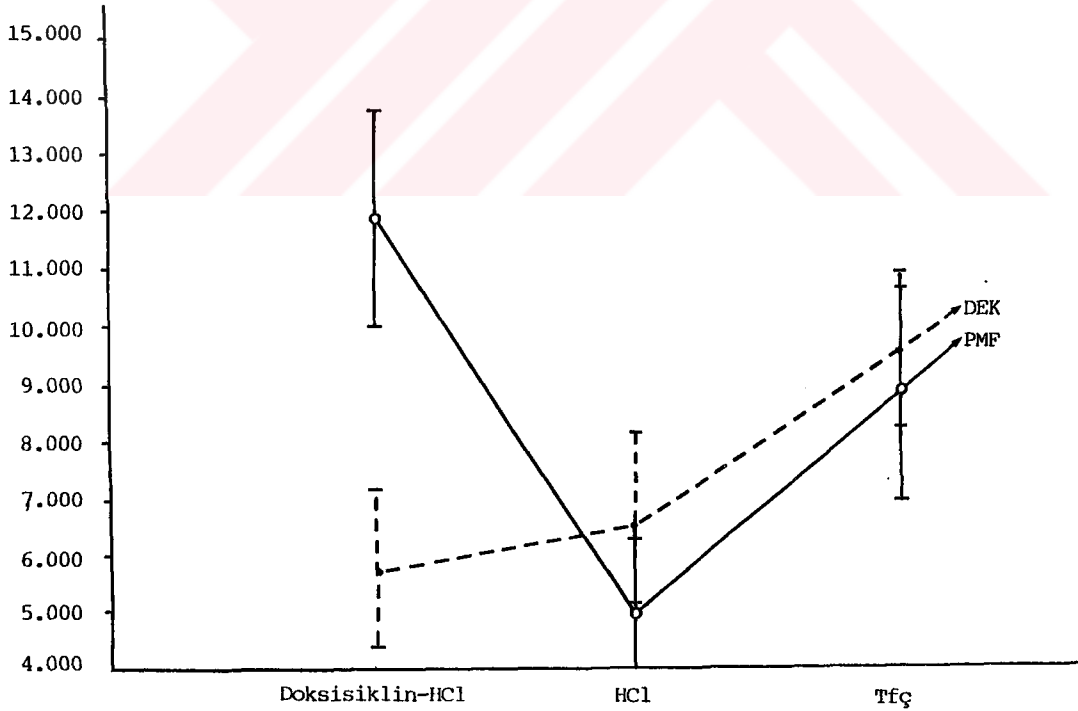


sim 7: Yukarıdaki resimde 1.saat sonunda kök yüzeyine tutunması mamlanmamış PMF hücresi izlenmektedir(x4000). Hücre henüz yüzey erinde normal yayvan morfolojisine erismemiştir. Aşağıdaki simde ise tutunmasını tamamlamış PMF hücresi izlenmektedir(x1500)

ki ayrı kimyasal yöntem ve kontrol grubu ile gerçekleştirilen hücre tutunması deneyinin sonuçları tablo-8, şekil-9 da verilmiştir.

	D-HCl	HCl	TFÇ	D-HCl
PMF	11788 *	4745 *	8794	11788
	±	±	±	±
	1876 *	1460	1954	1876
	* * *			* * *
DEK	5724	6513	9518	5724
	±	±	±	±
	1382	1588	1408 *	1382

Tablo 8: Hücre tutunması çalışmasının sonuçları. Tüm grupların birbirleri ile ilişkisinin açık olarak görülebilmesi için doksisisiklin grubunun sonuçları iki kez verilmiştir. Ortalamaların ve standart sapmaların verildikleri kutuların aralarındaki yıldızlar istatistiksel anlamları göstermektedir. *** $p < 0,001$ ** $p < 0,01$ * $p < 0,05$



Şekil 9: Sement örneklerinin farklı çözeltilerle işlenmesi sonucu yüzeylerine tutunan hücrelerin sayısal değerleri arasındaki ilişki.


alışmanın sonuçları hücre grupları açısından değerlendirildiğinde er iki hücre grubunun da HCl ve kontrol yöntemlerinde paralel sonuçlar verdiği gözlenmektedir. DEK hücreleri hem HCl hem de DFÇ gruplarında daha fazla tutunma sağlamışlardır, ancak PMF ile aralarındaki fark istatistiksel açıdan anlam taşımamaktadır. Doksisisiklin grubu değerlendirildiğinde ise tersine bir etkileşim söz konusudur. PMF grubu doksisisiklin uygulanan kök yüzeylerine DEK grubuna oranla daha fazla tutunmakta ve aralarındaki fark ileri derecede ($p<0,001$) istatistiksel anlam taşımaktadır.

Ücre grupları kendi içlerinde uygulanan yöntemlere göre değerlendirildiğinde, PMF grubunda, doksisisiklin uygulanan yüzeylere tutunan ücre sayısı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında doksisisiklin lehine gözlenen fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir. Buna karşın doksisisiklin grubu HCl grubu ile kıyaslandığında aralarında doksisisiklin lehine ileri derecede ($p<0,001$) istatistiksel anlam taşıyan bir fark söz konusudur. HCl grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında kontrol grubu lehine istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0,01$) bir fark belirlenmiştir.

DEK hücrelerinin farklı yöntem ve kontrol grupları ile ilişkisi incelendiğinde doksisisiklin uygulanan örneklerle tutunan hücre sayısının TFÇ uygulanan kontrol grubuna oranla belirgin derecede az ve aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0,01$) olduğu görülmüştür. HCl uygulanan örneklerle hücre tutunması da kontrol grubuna oranla daha azdır ve aralarındaki fark $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel anlam taşımaktadır. Doksisisiklin uygulanan grupta tu-

unan hücre sayısı HCl grubuna göre daha az olmakla birlikte iki yöntem arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanamamıştır.





T A R T I Ő M A

alışmada TTS türevleri arasından doksisisiklinin seçilmesinin nedeni daha önce yayınlanan çalışmalarda yüzeysel uygulanan doksisisiklin çözeltilerinin denenen diğer TTS türevlerine göre dentin dokusuna daha kalıcı bağlandığının belirtilmesidir. Bjorvatn ve ark. çalışmalarında TTS-HCl, oksitetrasiklin ve doksisisiklin-HCl çözeltilerinde bekletilen dentin örneklerinin agar difüzyon inhibisyon yöntemi ile uygulanan ilacı bağlama potansiyellerini karşılaştırmışlardır⁽¹⁰⁾. çalışmada doksisisiklin çözeltilerinde bekletilen örneklerin uygulanan diğer çözeltilere oranla daha geniş inhibisyon alanları oluşturdukları bildirilmiştir. Bir yıl sonra aynı araştırmacı grubu TTS türevlerinde 24 saat bekletildikten sonra beş gün yıkanıp 200 in kurutularak bekletilen dentin örneklerini oluşturdukları antibakteriyel etki açısından değerlendirmişlerdir⁽¹¹⁾. Bu uygulama ile tüm gruplarda antibakteriyel etkinin azaldığı ancak bu azalmanın doksisisiklin grubunda diğer gruplara oranla daha sınırlı olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmaların ışığı altında doksisisiklinin yüzeysel uygulamalarda diğer TTS türevlerinden daha etkin olduğunu düşündükümüz ve daha önce gerçekleştirdiğimiz çalışmamız⁽²³⁾ ile bütünlük sağlaması için çalışmamızda sadece doksisisiklin kullanımını seçtik.

alışmamızın tamamında gözlemlerin yoğunlaştığı kök yüzeyi bölümü ağılantı epitelinin hemen krunalinde kalan 2 mm'lik yüzey parçasıdır. Cerrahi periodontal tedaviyi izleyen iyileşme döneminde yeni ataşman oluşması beklenen bölge alveol kemiğinin en krunal seviyesinden itibaren kök yüzeyinde krunale doğru ilerleyen alandır. yayınlanan yeni ataşman çalışmaları yeni sement ve periodontal liflerin oluşumunun bu bölgede 1 ile 5 mm'lik bir alanda gerçekleş-

liğini ortaya koymuştur^(41.57). Bu nedenle çalışmamızda gözlemlenen kök yüzeyi bölgesi yukarıda sözü edilen sınırlar içerisinde tutulmuştur. Örnekleme sırasında periodontal ceplerin aktif yada pasif olduğunun belirlenememesi nedeniyle, bağlantı epiteli kaybı ile periodontal hastalığın zaten belgelendiği bölge hedef doku olarak seçilmiştir.

Seçilen bölgenin deneylere hazırlanması sürecinde dokunun dehidrasiyona uğrayıp özelliklerini yitirmemesine özen gösterilmiş ve örnekler yöntemin gerektirdiği biçimde ya serum fizyolojik yada TFC içinde kontrollü ısıda saklanmışlardır.

Çalışmanın her aşamasında gerçekleştirilen kök yüzeyi düzleştirme işlemi daha önce kullanılmamış 13/14 Columbia küretleri ile gerçekleştirilerek düzleştirme işleminde küret yüzeylerinin aşınmış olmasından kaynaklanabilecek farklılıkların oluşması engellenmiştir.

EM çalışmasında seçilen yöntem sayesinde doksisisiklin uygulanan ve uygulanmayan gruplar arasında örnek alınan dişlerin farklı olmasından kaynaklanabilecek farklı sonuçlar aynı dişten hem deney hem de kontrol örnekleri hazırlanarak engellenmiştir. Burada 100 mg/ml konsantrasyonu dışındaki doksisisiklin konsantrasyonları ve dentin rubu daha önceki mikrobiyolojik çalışmamızın⁽²³⁾ sonuçları dikkate alınarak çalışma kapsamına alınmamışlardır.

Ücre kültürü çalışmasında seçilen yöntem gerek örnek seçimi, gerekse deneyin gerçekleştirilme şekli açısından daha önce denenmemiş

ir yöntemdir. Çalışmanın temel amacı yüzeysel doksisisiklin uygulamasının hücre tutunmasına etkilerinin belirlenmesi olduğu için PMF ve EK hücreleri aynı bireylerden elde edilmiş ve doksisisiklin - HCl, Cl, TFÇ gruplarında her denekten alınan hücreler eşleştirilerek kullanılmıştır. Bu sayede kullanılan PMF ve DEK hücre gruplarının rasında genotipik ve fenotipik özelliklerinden doğabilecek farklar mümkün olduğunca ortadan kaldırılmıştır. Bunun yanısıra daha önce yaptığımız ön çalışmada kök örneklerinin bulunduğu petri kutularına yerleştirilen hücre kültürü sıvısının kısa bir süre içinde hareketsiz hale geçtiği ve hücre kültürü sıvısı içinde bulunup da kök yüzeyinden uzakta kalan hücrelerin sement yüzeylerine tutunma şansı olmadığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle hücre kültürü sıvısında ritmik hareket sağlamak amacı ile tutunma deneyi boyunca inkübatöre yerleştirilen bir alet yardımı ile kültür sıvısının hareketsiz hale geçmesi engellenmiştir. Kök örneklerinin kesik yüzeylerinin izolasyonu bu çalışmada gerekli görülmemiştir. Örnekler yerleştirildikten sonra petri kutularına dökülen 1 ml sıvı besiyerinin oluşturduğu derinlik 2 mm olup örneklerin kalınlığını aşmamaktadır. Bu nedenle hücrelerin kesik yüzeylere tutunması mümkün olmamıştır. Çalışmada bakteriyolojik petri kutuları kullanılarak besiyerindeki hücrelerin petri kutusunun çeperlerine tutunması engellenmiştir. Hücre kültürü çalışmasında kök örnekleri doksisisiklin ile işlem gördükten sonra serum içinde bekletilmemişlerdir. Hücre kültürü sıvısının %10 oranında serum içermesi bu işlemi gereksiz kılmıştır. Hücreler tutunma deneyine alındıklarında aynı pasajda olmalarına dikkat edilerek pasajlar arasında doğabilecek farklar ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır.

EM çalışmasında periodontal hastalıktan etkilenmiş kök yüzeylerini apladığı belirlenen tabakanın yapısı hakkında seçilen inceleme yöntemi kesin bilgi imkanı vermemektedir, ancak bazı örneklerde gözlemlenen çatlak hatları üzerinde yorum yapılabilir. Bu çatlaklar büyük bir olasılıkla örneklerin dehidrasyonu sırasında kuruyup özülmesine bağlı gelişmişlerdir. Aynı çatlaklara benzer oluşumlar üze yi düzleştirilmiş, doksisisiklin uygulanmamış örneklerde de görülmüştür. Bu örneklerde belirlenen çatlaklar dehidrasyona ağılı olabileceği gibi yüzeye uygulanan düzleştirme işlemi sırasında oluşan sürtünme geriliminden de kaynaklanabilir. Çatlakların derinliği de açıklık kazanmamıştır. Çatlak kenarlarının birbirine çok yakın olması nedeniyle yüksek büyütme ile aradaki boşluk incelenememiştir. Bu bölge ancak örneklerin çatlak hatları boyunca kırılması ile incelenebilir.

Periodontal hastalıktan etkilenmiş kök yüzeylerinin düzleştirilmesi sonucu elde edilen yüzeyin oluşturduğu görüntü sementin organik matrisinin ve içindeki submikroskopik kristallerin deformasyonu ve yer değiştirmesi sonucu oluşan smear tabakasını düşündürmektedir. Smear tabakası sürtünme ısısı ve sürtünme sırasında yüzeylerin elastik ve elastik deformasyonu sonucu oluşur ve morfolojik özellikleri yüzeyin yapısı ile yakından ilgilidir⁽⁹⁵⁾. Smear tabakasının gözlenen çizgilenmeler mekanik sürtünme işlemi sırasında uygulanan aletin çalışma yönünü göstermektedir. İncelenen örneklerde dentin kanallarının ağızlarının görülmemesi ve yüzeyin bütünlüğünü koruduğunun topografik olarak izlenmesi nedeniyle düzleştirme işleminin kısmen yada tamamen dentini ortaya çıkartmadığı düşünülmek -

edir.

u çalışmamızda periodontal hastalıktan etkilenmiş kök yüzeylerine oksisiklin uygulamasının yüzey topografyasını değiştirdiği belirlenmiştir. Dağ görüntüsünde olan çıkıntılar büyük bir olasılıkla harpey liflerinin artıklarıdır. Sharpey liflerinin çapları, diş normal fonksiyonda iken yaklaşık 4 u'dur⁽⁶⁶⁾. Şekil 5'de bu çıkıntılarının çaplarının 3 - 4,5 u arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu edenle, bunların Sharpey liflerinin artıkları olduğu düşünülebilir oksisiklin uygulanmayan örneklerde gözlenen çıkıntılarının da Sharpey artıkları olduğu ancak yüzey kaplaması altında daha yumuşak atlı olarak belirdiği düşünülebilir. Bazı çıkıntılarının ortasında örülen krater tarzındaki girintiler, bu çıkıntılarının Sharpey liflerinin artıkları olduğu kabul edilirse, liflerin mineralize olmamış orta bölümlerini temsil ettiği düşünülebilir. Yüzey daha yüksek büyütme ile incelendiğinde, yüzeyin yapısının fibröz yada retiküler karakterde olduğu izlenimi uyanmaktadır. Özellikle dağ görünümlü çıkıntılarının çevresi bu kanıyı destekler nitelikte görülmektedir.

Düzleştirilen kök yüzeylerine doksisiklin uygulanması sonucu yüzeydeki smear tabakası tamamen yada kısmen ortadan kalkmıştır. Smear tabakasının en tipik bulgularından biri olan, sürtünen aletin neden olduğu çizgilenmelerin bulunmayışı bu düşünceyi destekleyen en önemli gözlemdir. Yüzey poröz görünümündedir. Bu izlenimi uyandıran karanlık alanların dentin kanalcıklarının açılma ağızları olduğu düşünülebilir. Ancak dentin kanalcıklarının çaplarının 1,6 -2,5 u

nasında değiştiği dikkate alınır (37,71), incelenen yüzeydeki karanlık noktaların dentin kanalcıklarının ağızları olduğu düşünmesi zayıflar. Bu çalışmada şekil 6a'da izlenen karanlık noktaların sayılarının 0,1 - 0,6 u arasında değiştiği belirlendiği için, karanlık alanların dentin kanal ağızlarından çok, daha önce semento - ret uzantılarının yer aldığı boşluklar olduğu akla daha yakındır. Daha yüksek büyütme ile incelendiğinde yüzeyin yapısına fibrillerin hakim olduğu izlenmektedir. Fibriller tek tek olabildikleri gibi bazı alanlarda kümeler halindedir. Bu fibrillerin sementin kollagen fibrilleri olduğu düşünülebilir. Ancak bu araştırmada seçilen yöntem fibrillerin içeriği konusunda kesin bilgi vermekten uzaktır.

hücre tutunması çalışmasında kontrol grubunda periodontal hastalıklardan etkilenmiş sement yüzeylerine tutunan DEK'leri PMF'larına oranla sayıca daha fazla olmalarına rağmen aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın bulunmayışı DEK ve PMF hücrelerinin hastalıktan etkilenen sement yüzeylerine tutunma yeteneklerinin benzer olduğunu düşündürmektedir. Ancak yüzeylerin kimyasal bir ajan ile işlenmesi hücrelerin tutunma yeteneklerini etkilemektedir. Yüzeye uygulanan HCl, hücre tutunmasını her iki grupta da olumsuz etkilemiştir. Bu beklenmeyen bir sonuçtur. HCl'ün sement yüzeyinde siddetli özelliklerinden dolayı demineralizasyona neden olduğu düşünülürse, sement yüzeyinde asidin etkisine bağlı olarak kollagen liflerinin ağığa çıkması beklenir (36). Ağığa çıkan kollagen liflerini sentezleyen mezenkim kökenli hücreler aynı zamanda ekstrasellüler matrislerini de sentezlerler (77). Yani fibronektin ve kondratin 'ı da ortama verirler. Bu nedenle demineralize edilen

sement yüzeyinde fibronektinin de bulunması gerekir⁽⁶³⁾. Bu olgu en azından mezenkim kökenli hücrelerin demineralize yüzeye daha fazla tutunmasını gerektirirdi. Ancak bizim HCl ile gerçekleştirdiğimiz deneyde her iki hücre grubunun tutunma miktarlarında azalma görülmesi nedeniyle HCl ile sement yüzeyinin demineralizasyonunun, eğer gerçekten demineralizasyon gerçekleşiyorsa, asidin pH'ı dışında diğer özellikleri nedeni ile hücre tutunmasına elverişli yüzeyler yaratmadığı düşünülebilir.

Periodontal hastalıktan etkilenmiş sement yüzeylerine doksisisiklin - l uygulananması PMF'ları açısından beklenen sonuçları doğurmuştur. Diğer bir deyişle mezenkim kökenli hücrelerin sentezlediği yüzey tamamen yada kısmen açığa çıkarıldığında mezenkim kökenli başka hücrelerin yüzeye tutunma yetenekleri kısmen artmıştır. Ancak çalışmamızda doksisisiklin uygulanan örneklerle tutunan PMF miktarı TFC grubuna oranla daha fazla olmakla birlikte iki grup arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır. DEK'leri ile gerçekleştirilen deneyde doksisisiklin uygulanan yüzeylere hücrelerin tutunma miktarında TFC grubu ile kıyaslandığında anlamlı azalmalar belirlenmiştir.

sonuç olarak hücre kültürü çalışmasında doksisisiklin uygulanan periodontal hastalıktan etkilenmiş sement yüzeylerine PMF'larının DEK'lerine göre daha fazla tutunduğu gözlemlenmiştir. Aralarındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır. Ancak kontrol grubu ile deney grupları karşılaştırıldığında, deney grupları arasındaki bu farkın PMF hücrelerinin tutunma yeteneklerinin artmasından çok, deminerali-

elde edilen sement yüzeyinin DEK hücrelerinin tutunması için elverişli olmamasından kaynaklandığı düşünülebilir. Diğer bir deyişle periodontal hastalıktan etkilenmiş sement yüzeylerinin doksisisiklin HCl ile demineralizasyonu sonucu elde edilen yüzeyin özellikleri DEK hücrelerinin tutunabilmesi için caydırıcı özellikler taşımaktadır. Bunun nedeni olarak yüzeyin demineralize olup, sement yapısındaki mezenkim kökenli ekstrasellüler hücre matriksinin açığa çıkması düşünülebilir.

EM çalışmasında, periodontal hastalıktan etkilenmiş kök yüzeylerinde, yüzey morfolojisini maskeler nitelikte kaydettiğimiz tabakaların daha önce başka çalışmacılar tarafından da bildirilmiştir^(25,26). Bu araştırmacılar sözü edilen yüzey kaplamasının mikrobiyal plaktan oksun alanda kuronale doğru gidildikçe kalınlaştığını bildirmişlerdir. Ancak bizim seçtiğimiz yöntem bu kalınlık farkını belirlemek için yeterli değildir.

Periodontal hastalıktan etkilenmiş kök yüzeylerinin düzleştirilmesi sonucu elde ettiğimiz görüntü, yüzeyde smear tabakasının varlığını işündürmektedir. Başka araştırmacılar da yüzeyin periodontal tretlerle düzleştirilmesi sonucu gözlenen tabakanın smear tabakası olduğunu düşünmektedirler^(43,58,62).

Ök yüzeyi düzleştirilmeden doksisisiklin uygulanan örneklerden elde ettiğimiz sonuçlar şaşırtıcıdır. Çünkü bu örneklerde doksisisiklin uygulamasının yüzeyde daha önce var olduğunu belirlediğimiz kaplamayı kısmen yada tamamen ortadan kaldırdığı belirlenmiştir. Aynı

öntemle, benzer örnekler üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada 3 dakika sitrik asit (pH 1) uygulamasının periodontal hastalıktan etkilenmiş kök yüzeyleri üzerinde morfolojik değişimlere yol açmadığı bildirilmiştir⁽²⁶⁾. Aynı çalışmada hastalıklı sement yüzeyinde bulunan çöküntülerin sitrik asit uygulamasından sonra daha az belirgin olduğu da vurgulanmıştır. Bizim gözlemlerimiz ise bu bulgulardan tamamen farklıdır. Bulgulardaki bu farkın nedeni kullanılan asitin yapısı ile ilgili olabilir. Ayrıca sözü edilen çalışmada kök örneklerinin hangi bölümlerinin incelendiği tam olarak bildirilmemiştir.

Çalışmamızda, kök yüzeyi düzleştirildikten sonra doksisisiklin uygulamasının, smear tabakasını kısmen yada tamamen ortadan kaldırdığı ve kollagen lifler olduğunu düşündüğümüz fibrilleri açığa çıkarttığı belirlenmiştir. Doksisisiklinin sement üzerinde yol açtığı değişimler daha önce belgelenmemekle birlikte, dentin üzerindeki etkilerini inceleyen araştırmalar TTS uygulamasının yüzeydeki smear tabakasını kısmen yada tamamen kaldırdığını göstermişlerdir^(19,37,38). Dentin üzerinde sitrik asit (pH 1) ve tetrasiklin TTS'nin (pH 3,2) etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada sitrik asitin yüzeydeki kollagen lifleri açığa çıkartabildiği, TTS uygulamasının bu açıdan daha sınırlı kaldığı, ancak kısmen de olsa benzer etki gösterdiği bildirilmiştir⁽³⁷⁾. Sözü edilen çalışmada kullanılan TTS konsantrasyonu (0,5 mg/ml) yüksek bir pH değeri vermiştir. Bu nedenle pH'ı 1 olan sitrik asit ile pH'ı 3,2 olan TTS çözeltisinin, asidik etkilerini karşılaştırmak amacı ile incelenmesi yanlıştır. Araştırmacılar TTS'nin daha yüksek konsantrasyonlar-

a suda çözünmediğini iddia etmelerine karşın, çalışmamızda 100 g/ml konsantrasyonunda hazırlanan doksisisiklin çözeltisi çökelti luşturmamıştır. TEM gözlemlerimiz sitrik asit ile gerçekleştirilen enzer çalışmalarla karşılaştırılabilir. Bu araştırmalarda, perio - ontal hastalıktan etkilenmiş sement yüzeylerine düzleştirildikten onra sitrik asit uygulamasının, yüzeydeki kollagen lifleri açığa ıkarttığı bildirilmiştir^(22,28,36). Bizim bulgularımız sitrik asit alışmalarında elde edilen bulgulara benzemektedir.

Ücre kültürü çalışmamızın sonuçlarını kullanılan hücreler ve uygu - ma yöntemi nedeniyle başka çalışmalarla karşılaştırmak oldukça üctür. Ancak elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak geliştirdiğimiz orunlar bir ölçüde karşılaştırılabilir.

alışmamızda periodontal hastalıktan etkilenmiş ve yüzeyi düzleştii - lmiş sement örneklerine tutunan DEK'leri ve PMF'lerinin sayısal eğerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı ırganmıştır. Ancak daha önce başka araştırmacılar yüzeyi düzleş - irilen sement örneklerine DEK'lerinin dişeti fibroblastlarına (F) oranla daha fazla tutunduğunu bildirmişlerdir^(75,76). Fakat bu ılgu PMF'ları için geçerli olmayabilir. Çünkü PMF ve DF'lerinin izeylere in-vitro ortamlarda tutunma özelliklerinin farklı olduğu ildirilmiştir⁽⁷³⁾. Bu farkın nedeni hücrelerin yüzeylere tutun - ısında hücre duvarı ile tutunulan yüzeyin özelliklerinin yanısıra icrelerin ekstrasellüler matrikslerinin de rol oynaması olabi - r⁽⁴⁴⁾. Yapılan bir in-vitro biyokimyasal çalışmada, PMF'lerinde ıtein ve kollagen sentezinin DF'lara oranla daha yüksek, PMF'la-


ının alkalın fosfataz düzeylerinin daha fazla olduğu bildirilmiştir (72). Büyüme hızı ve makromolekül sentezinin karşılaştırıldığı bir başka çalışmada iki hücre grubu arasında benzerlikler olmasına karşın fonksiyonel farkların görüldüğü belirtilmiştir (49). In-vivo çalışmalarda DF'ların kök yüzeyi ile temas haline geçmesi kök ezorbsiyonu veya bağ dokusu liflerinin kök yüzeyine paralel seyretmesi ile sonuçlanırken (55), PMF'ları aynı koşullarda yeni ataşan oluşumuna yol açmışlardır (56). PMF'ları ve DF'lar ile gerçekleştirilen in-vitro ve in-vivo çalışmalarda bu iki hücre grubunun aynı kökenli olmasına karşın birçok özelliklerinin farklı olduğunun belirlenmesi nedeni ile bizim sonuçlarımızın, DF'ları ile gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmasının yanıltıcı olabileceği göz ardı edilmemelidir.

alışmamızda yüzeyi düzleştirilen sement örneklerinin doksisisiklinle işlenmesi PMF'larının yüzeye tutunma yeteneğini değiştirmemiştir. Ancak bazı araştırmacılar kök yüzeyine asit uygulamasından sonra tutunan mezenkim kökenli hücrelerin sayısında artma gözlediklerini bildirmişlerdir. Dentin yüzeyine TTS ile işlenmesinden sonra FN uygulamasının hücre tutunmasına olan etkisinin incelendiği bu çalışmalarda, yüzeye tutunan DF'ları (76) ve PMF'larının (76) sayıca arttığı bildirilmiştir. Ancak her iki çalışmada da hücrelerin artan sayıda tutunmasında etkin olan faktörün TTS uygulaması mı yoksa FN uygulaması mı olduğu açıklık kazanmamıştır. Yazarlar TTS uygulamasının FN'in bu yüzeylere bağlanma miktarını arttırdığını bildirdikleri için görülen artışın FN uygulamasına bağlı olduğunu düşünerek daha akla yakındır.

MF'lerinin kısmen demineralize kök yüzeylerine tutunma yeteneklerinin incelendiği bir çalışmada sement yüzeyleri sitrik asit, HCl, veya EDTA ile işlendikten sonra hücre tutunma deneyi gerçekleştirilmiştir⁽¹⁴⁾. Çalışmada yöntem ne olursa olsun, sement yüzeyinin demineralizasyonunun PMF'lerinin tutunma yeteneğini arttırdığı bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada sonuçları etkileyebilecek birçok etken vardır. öncelikle çalışma sığırlardan elde edilen sağlıklı iş örnekleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca kök yüzeylerinin çekim sonrası kalan bağ dokusu artıkları enzimatik ayrıştırma yöntemi ile uzaklaştırılmışlardır. Kullanılan enzim karışımında kollegenaz, kondratin sülfat ve elastazın da bulunması dikkat çekicidir. Kollegenaz mezenkim kökenli hücrelerin salgıladıkları ekstrasellüler matriks üzerinde etkilidir. Kondratin sülfat da zaten bu matriksin bir parçasıdır. Bu nedenle daha önce enzimatik işlemden geçirilen kök yüzeylerinin demineralizasyonu sonucu hücre tutunması incelendiğinde elde edilen bulguların uygulanan her iki işlemde de etkilenmiş olabileceği göz ardı edilmemelidir. Yukarıda açıklanan nedenlerle bu çalışmanın sonuçları demineralizasyonun etkisini tek başına veremeyeceği için bizim çalışmamızla karşılaştırılması yanıltıcı olabilir. Ancak çalışmada dikkat çeken bir noktada HCl grubuna ait örneklerin de hücre tutunmasını olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Bu bulgu da yukarıda açıklanan uygulamalardan etkilenmiş olabilir.

K'lerinin kısmen demineralize kök yüzeylerinde büyüme ve göç etme yeteneklerinin TEM ile incelendiği çalışmalarda sığır dişlerinden

elde edilen kök örneklerinin yüzeylerinin EDTA ile demineralizasyonunun DEK'lerinin büyüme ve göç yeteneğini olumsuz etkilediği belirtilmiştir^(60,61). Her iki çalışmada da DEK ve sement örneklerinin farklı biyolojik türlerden elde edilmesi nedeniyle, sonuçların bizim çalışmamız ile karşılaştırılması oldukça güçtür. Ancak çalışma, mezenkim kökenli yüzeylerin asit ile demineralizasyonunun epitel hücrelerinin büyüme ve göç yeteneklerini olumsuz yönde etkilediğini belgelemesi açısından ilginçtir. Çalışmamızın sonuçları sözü edilen iki çalışmanın sonuçları ile bir anlamda benzerdir. Çünkü DEK hücrelerinin büyüme ve göç yeteneğini olumsuz etkileyen yüzeylerin aynı zamanda bu hücrelerin tutunmasında da aydırıcı olabileceği düşünülebilir.



S O N U Ç L A R

alışmamızda elde edilen sonuçlar şöyle sıralanabilir:

- Doksisisiklin - HCl periodontal hastalıktan etkilenmiş sement yüzeylerinde gözlenen ve yüzeyin morfolojisini maskeleyen tabakayı kısmen yada tamamen kaldırmaktadır.
- Periodontal hastalıktan etkilenmiş sement yüzeylerine düzleştirildikten sonra doksisisiklin - HCl uygulanması yüzeydeki smear tabakasını kısmen veya tamamen kaldırmakla birlikte yüzey matriksinin açığa çıkmasına neden olmaktadır.
- Periodontal hastalıktan etkilenmiş ve düzleştirilmiş sement yüzeylerine periodontal membran fibroblastlarının ve dişeti epiteli keratinositlerinin tutunma yetenekleri birbirlerine benzemektedir.
- Periodontal hastalıktan etkilenmiş kök yüzeylerinin düzleştirildikten sonra doksisisiklin ile işlenmesi periodontal membran fibroblastlarının yüzeye tutunma yeteneğini etkilememektedir.

Yüzeyi düzleştirilen hastalıklı sementin doksisisiklin ile işlenmesi dişeti epiteli keratinositlerinin aynı yüzeylere tutunma yeteneğini olumsuz etkilemektedir.

Düzleştirilmiş sement yüzeyinin HCl ile demineralizasyonu çalışmamızda kullanılan her iki hücre grubunun da sement yüzeylerine tutunmasında olumsuz etki göstermektedir.

alışmamızda elde edilen bulguların tamamının in-vitro ortamlarda gerçekleştiği ve in-vitro bulgulardan her zaman in-vivo veya in-situ genellemeler yapılamayacağı açıktır. Bu gerçek dikkate alınarak çalışmamızın sonuçlarının klinik anlamı üzerinde yorumlar yapılabilir.

Cerrahi periodontal tedavi sırasında kök yüzeylerine doksisisiklin -
li uygulaması sonucu:

Mekanik periodontal tedavinin kök yüzeyi üzerinde oluşturduğu smear tabakası ortadan kaldırılabilir.

Cerrahi işlem sonrasında gözlenen epitelin apikale doğru göç etmesi engellenebilir veya tamamen durdurulabilir.

çalışmamızda elde edilen bu klinik beklentiler açıklığa kavuşturulmamış önemli bir ayrıntının da araştırılmasını gündeme getirmektedir.

In - vitro koşullarda epitel hücrelerinin tutunması için caydırıcı özellikler taşıyan doksisisiklin uygulanmış sement yüzeyleri in-situ ortamlarda aynı özelliklerini koruyorlar mı?

çalışmamızda elde edilen noktaların araştırılması ve bulgular doğrultusunda doksisisiklinin yüzeyel uygulamasının klinik değerinin belirlenmesi gerekmektedir.

Ö Z E T

u çalışma periodontal hastalıktan etkilenmiş kök yüzeylerine uygulanan doksisisiklin hidroklorürün etkilerini incelemek amacı ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla doksisisiklinin kök yüzeyinde asidik zelliklerine bağlı yol açtığı değişimler taramalı elektron mikroskopu ile, sitolojik etkileri hücre kültürü yöntemi ile periodontal membran fibroblastları ve dişeti epiteli keratinositleri üzerinde incelenmiştir.

Periodontal hastalıktan etkilenmiş sement yüzeyinin ve bu yüzeyin düzleştirilmeden veya düzleştirildikten sonra doksisisiklin ile işlenmesi ile değişen topografyası taramalı elektron mikroskopisi ile incelenmiştir. Kök örnekleri 100 mg/ml (pH 2) konsantrasyonundaki doksisisiklin çözeltisinde veya serum fizyolojik içerisinde 3 dakika inkubatildikten sonra incelenmişlerdir. Gözlemlerimiz doksisisiklin uygulamasının yüzeyi düzleştirilen ve düzleştirilmeyen sement örneklerinin topografyasını belirgin bir şekilde değiştirdiğini göstermektedir. Kök yüzeyi düzleştirilen örneklerde elde edilen sonuçlar diğer araştırmacıların sitrik asit ile ettiği sonuçlara benzemektedir. Elde edilen en ilginç bulgu kök yüzeyi düzleştirilmeyen örneklerde normalde rastladığımız yüzey kaplamasının doksisisiklin uygulaması sonucu değiştiği yada tamamen ortadan kalktığıdır.

Periodontal hastalıktan etkilenmiş sement yüzeylerinin periodontal membran ve dişeti epiteli hücrelerinin tutunmasına olan etkileri hücre kültürü yöntemi ile incelenmiştir. Periodontal hastalıktan

tkilenmiş sement örnekleri doksisiklin-HCl (pH 2), HCl(pH 2) ve amponlanmış fosfat çözeltisi(pH 7) ile işlendikten sonra, insandan lde edilen periodontal membran fibroblastları ve dişeti epiteli eratinositleri ile ayrı ayrı inkübe edilmişlerdir. Tutunan hücre ayısı 3 saatlik inkübasyonun sonunda sement yüzeylerinden ayrıştı- ılan hücrelerin elektronik sayaç yardımı ile sayılması sonucu elirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları doksisiklin uygulamasının eriodontal membran fibroblastlarının tutunmasını etkilemediğini ncak dişeti epiteli keratinositlerinin tutunmasını olumsuz yönde tkilediğini göstermektedir. Ayrıca sement yüzeyinin HCl ile şlenmesi her iki hücre grubunun tutunma yeteneğini olumsuz tkilediği belirlenmiştir. Bulgularımız sement yüzeylerinin doksi- iklin ile işlenmesi sonucu cerrahi periodontal tedaviden sonra ara iyileşmesinde görülen apikale doğru epitel migrasyonunun oksisiklin çözeltilerinin kök yüzeylerine uygulanması sonucu ngellenebileceğini düşündürmektedir.

topical application of doxycycline-HCl on periodontally involved root surfaces in-vitro .

Summary: This study is designed to investigate the effect of doxycycline-HCl when applied topically on periodontitis affected root surfaces. On this regard the effect of acidic composition of doxycycline on periodontally involved cementum was observed by scanning electron microscope, and cytological effects of the drug on attachment of periodontal ligament fibroblasts and gingival keratinocytes to diseased effected cementum were studied by culturing before mentioned cells from human objects.

Surface morphology of periodontally involved root cementum and its alteration following topically applied doxycycline hydrochloride to root planed and non - planed samples were observed by scanning electron microscope. Root slides were treated with 100 mg/ml (pH 2) doxycycline-HCl solution for 3 minutes. A control group was treated with sterile saline. Observations showed that conditioning the periodontally diseased cementum surfaces altered the surface topography significantly. Root planed, doxycycline treated surfaces showed characteristics similar to those reported for citric acid conditioning. An important finding of this part of the study was that the topical application of doxycycline-HCl also removed and/or altered the surface integument on non-planed root surfaces.

The effect of doxycycline conditioning of cementum surface on

Attachment of periodontal ligament fibroblasts and gingival keratinocytes was investigated on periodontally involved and root planed human teeth. After cultivation of cells derived from human subjects, root specimens (2 mm thick) were root planed and then treated with doxycycline-HCl (pH 2), HCl (pH 2), and phosphate buffered saline (pH 7). Specimens were incubated in bacteriological petri dishes with cells for 3 hours. After the incubation period cells that were attached to cementum slabs were counted by Coulter counter. Results indicated that doxycycline conditioning of exposed cementum does not promote fibroblast attachment but discourages epithelial cell attachment. Furthermore HCl treatment of root surfaces inhibited periodontal ligament fibroblast and gingival keratinocyte cell attachment. Our findings could imply that surface conditioning of cementum with doxycycline would be a method to deter epithelial downgrowth after periodontal surgery.

K A Y N A K Ç A

- 1- Adelson L. ve ark.: In - vitro cytotoxicity of periodontally diseased root surfaces. J.Periodontol. 51:700,1980.
- 2- Adriaens P.A., DeBoever J.A., Loesche W.J.: Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. A reservoir for periodontopathic bacteria. J.Periodontol. 59:222,1988.
- 3- Adriaens P. A. ve ark.: Ultrastructural observations on bacterial invasion in cementum and radicular dentin of periodontally diseased human teeth. J.Periodontol. 59:493,1988.
- 4- Aleo J. ve ark.: The presence and biologic activity of cementum bound endotoxin. J.Periodontol. 45:672,1974.
- 5- Alger F.A. ve ark.: The histologic evaluation of new attachment in periodontally diseased human roots treated with tetracycline hydrochloride with fibronectin. J. Periodontol. 61:447,1990.
- 5- Baker P.J. ve ark.: Minimal inhibitory concentrations of various antimicrobial agents for human oral anaerobic bacteria. Antimicrob.Agents Chemother. 24:420,1983.
- 7- Baker P.J. ve ark.: Tetracycline and its derivatives strongly bind to and released from the tooth surface in an active form. J.Periodontol. 54:580,1983.
- 3- Baker P.J. ve ark.: Substantivity and surface effects of tetracycline on dentin under simulated clinical conditions. J.Dent.Res. Spec.Issue 64:Abstr.no.1167,1985.
- 1- Bjorvatn K.: In - vitro study by fluorescence microscopy and

- microradiography of tetracycline tooth interaction. Scand. J.Dent. Res. 91:417,1984.
- 0- Bjorvatn K., Skaug N., Selvig K.A.: Inhibition of bacterial growth by tetracycline impregnated enamel and dentin. Scand. J.Dent.Res. 92:508,1984.
- 1- Bjorvatn K., Skaug N., Selvig K.A.: Tetracycline impregnated enamel and dentin: Duration of antimicrobial capacity. Scand. J.Dent.Res. 93:192,1985.
- 2- Bjorvatn K., Skaug N.: Intraoral bacterial growth on tetracycline impregnated dentin. Scand.J.Dent Res. 94:95,1986.
- 3- Bjorvatn K.: Scanning electron microscopic study of pellicle and plaque formation on tetracycline impregnated dentin. Scand. J.Dent.Res. 94:89,1986.
- 4- Boyko G.A., Brunette D.M., Melcher A.H.: Cell attachment to demineralized root surfaces in vitro. J.Periodont.Res. 15:297, 1980.
- 5- Cheetham W.A., Wilson M., Kieser J.B.: Root surface debridement. An in - vitro assesment. J. Clin. Periodontol. 15:288,1988.
- 6- Ciancio S.G.: Non-Surgical periodontal treatment. Proceedings of the world workshop in clinical periodontics. AAP NJ.:II-13,1989.
- 7- Ciarlone A.E. ve ark.: The quantitative binding of tetracycline to dentin. J.Endodontics 14:494,1988.
- 8- Claffey N. ve ark.: Topical application of tetracycline in regenerative periodontal surgery in beagles. Acta Odontol. Scand. 45:141,1987.
- 9- Concensus Report, Non - Surgical periodontal treatment.

Proceedings of the world workshop in clinical periodontics.

AAP NJ.: II-13,1989.

- 0- Daly C.G., Seymour G.J., Kieser J.B.: Bacterial endotoxin: A role in chronic inflammatory disease? J.Oral Pathol. 9:1,1980.
- 1- Daly C.G. ve ark.: Histological assesment of periodontally involved cementum. J.Clin.Periodontol. 9:266,1982.
- 2- Daryabegi P., Pameijer C.H., Ruben M.P.: Topography of root surfaces treated in vitro with citric acid, elastase, and hyaluronidase. J.Periodontol. 52:736,1981.
- 3- Demirel K., Baer P.N., McMamara T.F.: Topical application of doxycycline on periodontally involved root surfaces in-vitro: Comparative analysis of substantivity on cementum and dentin. J.Periodontol. 62:312,1991.
- 4- Eckles T.A. ve ark.: Intracrevicular application of tetracycline in white petrolatum for the treatment of periodontal disease. J.Clin.Priodontol. 17:454,1990.
- 5- Eide B., Lie T., Selvig K.A.: Surface coatings on dental cementum incident to periodontal disease. I.Scanning electron microscopic study. J.Clin.Periodontol. 10:157,1983.
- 6- Eide B., Lie T., Selvig K.A.: Surface coatings on dental cementum incident to periodontal disease. II.Scanning electron microscopic confirmation of a mineralized cuticle. J.Clin. Periodontol. 11:565,1984.
- 7- Frantz B., Polson A.: Tissue interactions with dentin specimens after demineralization using tetracycline.J.Periodontol.59:714, 1988.
- 8- Garret J.S., Crigger M., Egelberg J.: Effects of citric acid on

- diseased root surfaces. *J.Periodont.Res.* 13:155,1978.
- 9- Golub L.M. ve ark.: Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity. A new mechanism in the treatment of periodontal disease. *J.Periodont.Res.* 19:651,1984.
 - 0- Gomes B.C., Golub L.M., Ramamurthy N.S.: Tetracyclines inhibit parathyroid hormone induced bone resorption in organ culture. *Experientia* 40:1273,1984.
 - 1- Goodson J.M., Haffajee A., Socransky S.S.: Periodontal therapy by local delivery of tetracycline. *J.Clin.Periodontol.* 6:83, 1979.
 - 2- Goodson J.M. ve ark.: Monolithic tetracycline containing fibers for controlled delivery to periodontal pockets. *J.Periodontol.* 54:575,1983.
 - 3- Goodson J.M. ve ark.: Periodontal disease treatment by local drug delivery. *J.Periodontol.* 56:265,1985.
 - 4- Gordon J.M. ve ark.: Sensitive assay for measuring tetracycline levels in gingival crevice fluid. *Antimicrob.Agents Chemother.* 17:193,1980.
 - 5- Gwinnett A.J. : Smear layer, morphological considerations. *Operative Dent. Suppl.* 3:3,1984.
 - 6- Hanes P., Polson A., Frederik T.: Citric acid treatment of periodontitis effected cementum. A scanning electron microscopic study. *J.Clin.Periodontol.* 18:576,1991.
 - 7- Hanes P.J., O'Brien N.J., Garnick J.J.: A morphological comparison of radicular dentin following root planing and treatment with citric acid or tetracycline - HCl. *J.Clin. Periodontol.* 18:660,1991.

- 3- Hatfield C.G., Baumhammers A.: Cytotoxic effects of periodontally involved surfaces of human teeth. *Arch. Oral Biol.* 16:465, 1971
-)- Heimdahl A., Nord C.E.: Antimicrobial agents in the treatment of periodontal diseases: Special aspects on tetracycline and doxycycline. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 53:35, 1988.
-)- Holt S.C. ve ark.: Implantation of *Bacteroides gingivalis* in non - human primates initiates progression of periodontitis. *Science* 259:55, 1988.
- Isidor F. ve ark.: New attachment, re-attachment following reconstructive periodontal surgery. *J. Clin. Periodontol.* 2:728, 1985.
-)- Ito K. ve ark.: Determination of the presence of root - bound endotoxin using the local Schwartzman phenomenon (LSP). *J. Periodontol.* 56:8, 1985.
-)- Jones S.J., Lozdan J., Boyde A.: Tooth surfaces treated in-situ with periodontal instruments: Scanning electron microscopic studies. *Brit. Dent. J.* 132:57, 1972.
- Kleinman H.K., Klebe R.J., Martin G.R.: Role of collagenous matrices in the adhesion and growth of cells. *J. Cell. Biol.* 88:473, 1981.
- Larsen T.: In - vitro release of doxycycline from bioabsorbable materials and acrylic strips. *J. Periodontol.* 61:30, 1990.
- Lindhe J., Hamp S.E., Löe H.E.: Experimental periodontitis in the Beagle dog. *J. Periodont. Res.* 8:1, 1973.
- Löe H.E., Thilade E., Jensen S.B.: Experimental gingivitis in man. *J. Periodontol.* 36:177, 1965.
- MacAlpine R. ve ark.: Antimicrobial irrigation of deep pockets to supplement oral hygiene instruction and root debridement. I.

- Bi - weekly irrigation. *J.Clin.Periodontol.* 12:568,1985.
- Mariotti A., Cochran D.L.: Characterization of fibroblasts from human periodontal ligament and gingiva. *J.Periodontol.* 61:103, 1991.
 - Minabe M. ve ark.: Application of a local drug delivert system to periodontal therapy. I.Development of collagen preparations with immobilized tetracycline. *J.Periodontol.* 60:113,1989.
 - Minabe M. ve ark.: Subgingival administration of tetracycline on a collagen film. *J.Periodontol.* 60:552,1989.
 - Minabe M. ve ark.: Clinical effects of local application of collagen film - immobilized tetracycline. *J.Clin.Periodontol.* 16:291,1989.
 - Minabe M. ve ark.: Therapeutic effects of combined treatment using tetracycline immobilized collagen film and root planing in periodontal furcation pockets. *J.Clin. Periodontol.* 18:287, 1991.
 - Nakib N. ve ark.: Endotoxin penetration into root cementum of periodontally healthy and diseased human teeth. *J.Periodontol.* 53:368,1982.
 - Nyman S. ve ark.: Healing following implantation of periodontitis affected roots into gingival connective tissue. *J.Clin. Periodontol.* 7:394,1980.
 - Nyman S. ve ark.: The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *J.Clin. Periodontol.* 9:257,1982.
 - Nyman S. ve ark.: New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J.Clin.Periodontol.* 9:290,1982.

- Pameijer C.H., Stallard R.E., Hiep N.: Surface characteristics of teeth following periodontal instrumentation: A scanning electron microscopic study. J. Periodontol. 43:628,1972.
- Pascale D., ve ark: Concentration of doxycycline in human gingival fluid. J.Clin.Periodontol. 13:841,1986.
- Pitaru S. ve ark.: Growth and migration of gingival epithelial cells on mineralized and partially demineralized root surfaces in an in - vitro system. J.Periodontol.59:531,1988.
- Pitaru S. ve ark.: The effects of partial demineralization and fibronectin on migration and growth of gingival epithelial cells on cementum in - vitro. J. Dent. Res. 67:1386,1988.
- Polson A.M. ve ark: The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid. J.Periodontol. 55:443,1984.
- Qwarnström E.E., Page R.C.: Development of a three dimensional extracellular matrix synthesized by human diploid fibroblasts in-vitro. J.Cell Sci. 84:183,1986.
- Rosling B., Nyman S., Lindhe J.:The effect of systematic plaque control on bone regeneration in infrabony pockets. J.Clin. Periodontol. 3:38,1976.
- Sande M.E., Mandell G.L.: Antimicrobial agents. The pharmacological basis of therapeutics. Goodman & Gilman 7.baskı,MacMillan P.C.: 52.Bölüm,1985.
- Schroeder H.E., Page R.C.: The normal periodontium. Periodontal Disease. Schluger S., Yuodelis R.A., Page R.C.(Eds) Lea & Febiger Philadelphia, PA :46,1978.
- Silverstein I. ve ark.: Clinical and microbiological effects of

- local tetracycline irrigation on periodontitis. J.Periodontol. 59:301,1988.
- 3- Skinner H.C.W., Nalbandian J.: Tetracyclines and mineralized tissues: Review and perspectives. The Yale J.Biol.and Med. 48:377,1975.
- 3- Slots J., Genco R.J.: Black pigmented Bacteroides species, Capnocytophaga species, and Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease: Virulans factors in colonization, survival and tissue distruction. J.Dent.Res. 63:412,1984.
- 3- Socransky S.S.: Criteria for infectious agents in dental caries and periodontal disease. J.Clin.Periodontol. 6:16,1979.
- 3- Sögaard - Pedersen B., Boye H., Matthiessen M.E. : Scanning electron microscope observations on collagen fibers in human dentin and pulp. Scand.J.Dent.Res. 98:89,1990.
- 3- Somerman M.J. ve ark.: A comparative study of human periodontal ligament cells and gingival fibroblasts in - vitro. J.Dent.Res. 67:66,1988.
- 3- Somerman M.J. ve ark: Periodontal ligament cells and gingival fibroblasts respond differently to attachment factors in-vitro. J.Periodontol. 60:73,1989.
- 3- Spolsky V.: The epidemiology of gingival and periodontal diseases. Glickman's Clinical Periodontology. Carranza F.A (Ed) 4.Baskı W.B. Saunders. Philadelphia P.A.: 302,1990.
- 3- Terranova V.P., Martin G.R.: Molecular factors determining gingival tissue interaction with tooth structure. J.Periodont. Res. 17:530,1982.

- 6- Terranova V.P. ve ark.: A biochemical approach to periodontal regeneration: Tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth. *J.Periodont.Res.* 21:330,1986.
- 7- Terranova V.P., Wikesjö U.M.E.: Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of functions of cells of the periodontium. *J. Periodontol.* 6:371,1987.
- 3- Terranova V.P. ve ark.: A biochemical approach to periodontal regeneration. AFSCM: Assays for specific cell migration. *J.Periodontol.* 58:247,1987.
- 9- Tonetti M., Cugini M.A., Goodson J.M.: Zero-order delivery with periodontal placement of tetracycline - loaded ethylene vinyl acetate fibers. *J.Periodont.Res.* 25:243,1990.
-)- Wade W.G. ve ark.: The effects of antimicrobial acrylic strips on the subgingival microflora in chronic periodontitis. *J.Clin. Periodontol.* 19:127,1992.
- Walker C.B., ve ark.: Tetracycline levels achievable in gingival crevice fluid and in - vitro effect on subgingival microorganisms. Part II. Susceptibilities of periodontal bacteria. *J.Periodontol.* 52:613,1981.
- !- Wikesjö U.M.E. ve ark.: Binding of specific attachment proteins and cells to root surfaces demineralized with tetracycline-HCl. *J.Dent.Res. Spec.Issue* 64: Abstr. no 1168,1985.
- Wikesjö U.M.E. ve ark.: A biochemical approach to periodontal regeneration:Tetracycline treatment conditions dentin surfaces. *J.Periodont Res.* 21:322,1986.

E K L E R

- . Keratinosit Transfer Ortamı:
 Dubelco's Modified Eagle Medium (DMEM): % 84
 Fetal Bovine Serum (FBS) : % 15
 Hidrokortizon (HD) : % 1
 Fungizon (F) : 2,5 ug/ml
 Gentamisin (G) : 100 ug/ml
- . Keratinosit Yetiştirme Ortamı:
 DMEM : % 89
 FBS : % 10
 Penisilin(P) / Streptomisin(S) (1/1) : % 1
- . Hücre Dondurma Ortamı:
 Hücrenin yetiştiği ortam : % 90
 Dimetilsülfoksit : % 10
- . Fibroblast Transfer Ortamı:
 DMEM : % 89
 Fetal Calf Serum (FCS) : % 10
 F : 2,5 ug/ml
 G : 100 ug/ml
 P/S (1/1) : % 1
- . Fibroblast Yetiştirme Ortamı:
 DMEM : % 89
 FCS : % 10
 P/S (1/1) : % 1

. Hücre tutunması çalışmasında elde edilen ham değerler.

DEK	TTS	7629	5315	2973	4157	6578
DEK	HCl	12730	12740	4886	8793	9417
DEK	TFÇ	3529	12586	13869	13017	10590

PMF	TTS	10911	10347	10425	12487	14769
PMF	HCl	3458	3229	6722	9546	9756
PMF	TFÇ	10033	6077	10640	7411	6810

Ö Z G E Ç M i Ş i M

1962 Konya doğumluyum. İlk öğrenimimi Diyarbakır'da tamamladım. Orta ve lise öğrenimimi Tarsus Amerikan Lisesi'nde 1980 yılında tamamladım. Mesleki eğitimimi İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesinde 1985 yılında tamamlayıp aynı yıl, aynı fakültenin Periyodontoloji anabilim dalında doktora eğitimime başladım. 1989 yılında İstanbul Üniversitesi'nin bursu ile yurt dışında doktora çalışmalarımı sürdürmek üzere gönderildim. New York Eyalet Üniversitesi, Stony Brook Dişhekimliği Fakültesinde bir yıl süren çalışmalarımı tamamladıktan sonra döndüm ve halen aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.