

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANA BİLİM DALI

**DİŞETİ BÜYÜMESİ OLAN GENÇ HASTALARDA FARKLI
YÖNTEMLERLE OLUŞTURULAN SEKONDER YARALARIN İYİLEŞME
POTANSİYELİNE NİTRİK OKSİTİN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Tunç BÜYÜKTOPCU

Tez Danışmanı
Prof. Dr. İ. Levent TANER

ANKARA
Ekim 2008

T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANA BİLİM DALI

**DİŞETİ BÜYÜMESİ OLAN GENÇ HASTALARDA FARKLI
YÖNTEMLERLE OLUŞTURULAN SEKONDER YARALARIN İYİLEŞME
POTANSİYELİNE NİTRİK OKSİTİN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Tunç BÜYÜKTOPCU

Tez Danışmanı
Prof. Dr. İ. Levent TANER

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SBE-03/2006-1 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Ekim 2008

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Periodontoloji Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: ../../2008

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
.... Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
.... Üniversitesi

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
.... Üniversitesi

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
.... Üniversitesi

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
.... Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	i
İçindekiler.....	ii
Şekiller ve Resimler	iv
Grafikler ve Tablolar.....	v
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
a. Gingivektomi.....	5
b. Dişeti Büyümesi.....	5
i. Dişeti büyümesinin nedenleri.....	8
c. Elektro Cerrahi.....	9
i. Elektro cerrahinin avantaj ve dezavantajları.....	9
ii. Elektro cerrahinin diş hekimliğinde kullanım alanları.....	10
d. Yara İyileşmesi.....	11
i. Yara İyileşmesinin Histopatolojisi.....	11
ii. Gingivektomi Sonrası Yara İyileşmesi.....	15
iii. Elektro Cerrahi Sonrası Yara İyileşmesi.....	17
e. Nitrik Oksit.....	18
i. Nitrik Oksit Sentaz Enziminin İzofomları.....	19
ii. Arginin Amino Asidinden Nitrik Oksitin Sentezi.....	20
iii. Nitrik Oksitin Görevleri ve Metabolizmadaki Rolü.....	21
iv. Nitrik Oksit Difüzyonu.....	28
v. Yara İyileşmesi ve Nitrik Oksit.....	29
vi. Periodontal Hastalıklarda Nitrik Oksit.....	30
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	33
a. Hasta Seçimi ve Klinik Değerlendirme.....	33

i.	PI ölçüm kriterleri.....	34
ii.	GI ölçüm kriterleri.....	34
iii.	SK ölçüm kriterleri.....	34
b.	Biyopsi Tekniği.....	35
c.	İmmünohistokimyasal Yöntem.....	37
d.	Enflamasyonun Değerlendirilmesi.....	38
e.	İmmünohistokimya Boyanmanın Değerlendirilmesi...	39
f.	İstatistiksel Analiz.....	40
4.	BULGULAR	41
5.	TARTIŞMA	51
6.	SONUÇ	66
7.	ÖZET	68
8.	SUMMARY	70
9.	KAYNAKLAR	72
10.	TEŞEKKÜR	102
11.	ÖZGEÇMİŞ	103

Şekiller

Şekil 1: iNOS indüksiyonu ile NO oluşumu.....	21
---	----

Şekil 2: NO'nun etki mekanizmaları.....	23
Şekil 3: NO'nun Biyolojik Etkileri.....	28

Resimler

Resim 1: Faz 1 tedavi sonrası klinik görünüm.....	41
Resim 2: 1. Gün oluşturulan farklı yara yüzeyleri.....	44
Resim 3: İlk gün oluşturulan yara yüzeylerinin 3 gün sonraki klinik görüntüsü.....	44
Resim 4: Kontrol grubuna ait biyopsi görüntüleri	49
Resim 5: İnsizyon grubuna ait biyopsi görüntüleri	49
Resim 6: Koter grubuna ait biyopsi görüntüleri	50
Resim 7: Doku biyopsilerinde tespit edilen hücre çeşitleri.....	50

Grafikler

Grafik 1: Kontrol, İnsizyon ve Koter Gruplarına Göre Enflamasyon Skor Ortancaları ve 25.-75. Persentil Değerleri.....	46
---	----

Grafik 2: Kontrol, İnsizyon ve Koter Gruplarına Göre iNOS Pozitifliği
Skor Ortancaları ve 25.-75. Persentil Değerleri **47**

Grafik 3: Kontrol, İnsizyon ve Koter Gruplarına Göre iNOS
Boyanma Skor Ortancaları ve 25.-75. Persentil Değerleri**48**

Tablolar

Tablo 1: Tedavi Planı.....**35**

Tablo 2: Faz 1 tedavi öncesi ve sonrası kaydedilen klinik
veriler **42**

Tablo 3: Klinik Parametrelerin Faz 1 Tedavi Sonrası Değişimi **43**

Tablo 4: Enflamasyon, iNOS Pozitifliği ve iNOS Boyama
Skorlarının; Kontrol, İnsizyon ve Koter Gruplarına Göre
Dağılımı**45**

Tablo 5: Kontrol, İnsizyon ve Koter Gruplarına Göre
Enflamasyon, iNOS Pozitifliği ve iNOS Boyanma Skor
Ortancaları ve 25.-75. Persentil Değerleri.....**48**

1.GİRİŞ

Dişeti büyümeleri klinikte sıklıkla karşılaşılan periodontal bir hastalıktır. Genellikle enflamasyona bağlı gelişen dişeti büyümeleri, daha çok puberta dönemindeki çocuklarda, ağızdan solunum yapanlarda, hamilelerde, ortodontik tedavi görenlerde, dişeti büyümesine neden olabilen ilaç kullanan bireylerde görülmektedir.

Dişeti büyümelerinin oluşumunda birçok hazırlayıcı faktör olmasına rağmen ana etkenin bakteri plağı olduğu ve bu prosesin farklı seviyelerde gelişebilen enflamatuvar bir süreç olduğu bildirilmiştir.^{1,2} Ayrıca, bu durumun enflamasyona, ilaca, sistemik hastalıklara bağlı olabileceği veya neoplastik ya da yalancı büyüme olabileceği genel olarak kabul görmüştür. Dişetin normal konturlarının bozulması sonucu hastanın etkili bir oral hijyen sağlayabilmesinin zor olacağına da dikkat çekilmiştir.¹

Gingivektomi işlemi periodontolojide dişeti büyümelerinin uzaklaştırılması ve dişetin normal konturlarına kavuşturulması amacıyla sıkça kullanılan rezektif cerrahi bir işlemdir.³ Alt ve üst ön dişler bölgesinde, özellikle estetik kaygı da göz önüne alınarak, gingivektomi işlemine ihtiyaç duyulmaktadır.

Kök kazıma işlemine alternatif olan cerrahi yaklaşımlar 19. yüzyılın son bölümünde kabul görmüştür. İlk kez Robicsek gingivektomi işlemi duymuştur. Zentler ve Robicsek gingivektomi işlemi; dişetin uzaklaştırılacağı bölgede belirlenen hatta insizyon yapılması ile yumuşak dokunun uzaklaştırılması olarak açıklamışlardır.^{4,5} Robicsek, belirlenecek

insizyon hattının düz olması gerektiğini belirtmiş ancak daha sonra Zentler dantelâ şeklinde olması gerektiğini açıklamıştır. ^{4,5} Günümüzde uygulanan gingivektomi işlemi ise 1951 yılında Goldman tarafından açıklanmıştır. ⁶

Son yıllardaki gelişmeler sonucunda gingivektomi işleminin konvansiyonel cerrahi ve elektro cerrahi yöntemlerine ek olarak CO₂, Nd:YAG ve Er:YAG lazer gibi daha yeni yöntemlerle de yapılabileceği bildirilmiştir. ⁷⁻⁹

Supraalveoler ceplerin eliminasyonu için endike olan gingivektomi işlemi sonrası oluşan yara iyileşmesi, sekonder yara iyileşmesi olarak tanımlanmıştır. ^{10,11} Yara iyileşmesinin hücresel, humoral ve moleküler aktivitelerin çok iyi koordine olduğu; ayrıca hemostaz, enflamasyon, skar oluşumu ve örnekleme (remodeling) fazlarının iç içe geçtiği iyi koordine olmuş fazlar silsilesi olduğu bildirilmiştir. ¹⁰⁻¹⁵

Kanama ve ardından meydana gelen pıhtı oluşumu yara iyileşmesini başlatan ve yarayı koruyan en önemli faktör olarak ortaya konulmuş ve ancak kanama ile birlikte hücrelerin yara bölgesine gelmesinin mümkün olacağı açıklanmıştır. Yara bölgesine erken dönemde gelip dominant hücre karakterini oluşturan ve salgıladığı sitokinlerle yara iyileşmesini koordine eden makrofajların ise enflamasyonda önemli bir rol oynadığı birçok araştırmacı tarafından kabul görmüştür.

Makrofaj sayısının enflame periodontal dokularda artış gösterdiği ve enfeksiyöz etkenler, endotoksin ve sitokinler gibi çeşitli stimulanlarla aktive olan makrofajların; interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-

6), araşidonik asit metabolitleri, tümör nekrotizan faktör (TNF), reaktif oksijen metabolitleri, NO, trombosit aktive edici faktör, lizozim, elastaz, kollagenaz, asit hidrolazlar gibi çeşitli aktif madde ve enzimleri sentezleyerek doku yıkımında önemli rol üstlendiği açıklanmıştır.¹⁶⁻¹⁸

Nitrik Oksitin (NO) biyolojik sistemlerde üretildiğinin gösterilmesiyle birlikte, NO ve oksitlenmiş türevleri, başta sağlık bilimcileri olmak üzere biyolojik sistemlerle çalışanların gündemine taşınmış ve NO günümüzde tıp biliminde hızla en çok çalışan molekül haline gelmiştir.¹⁹

NO'nun reaktif özelliği nedeniyle saniyelerle ifade edilebilecek bir ömre sahip olduğu, endojen bir biyomolekül olarak tanımlanmasının önündeki en büyük engelin ise bu molekülün fizyolojik koşullarda çok dayanıksız olması ve hızla nitrit ya da nitrate oksitlenerek ortamdaki ayrılması olduğu bildirilmiştir.

NO'nun moleküler oksijen varlığında stabil olmadığı, hızlı ve spontan olarak çeşitli nitrojen oksitleri üretecek şekilde kendi kendine okside olduğundan dolayı hücre ve dokulardaki NO varlığının tespit edilmesinde zorluk çekildiği, bu nedenle de NO aktivitesinin tespiti için Nitrit (NO₂), Nitrat (NO₃) veya iNOS aktivitesinin değerlendirilmesinin daha faydalı olacağı belirtilmiştir.²⁰

Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzimlerinin memeli dokularındaki yaygın dağılımının keşfi ile radikal yapıdaki NO gaz molekülünün biyolojik etki ve fonksiyonlarının tanımlanması yönündeki araştırmaların hız kazandığı saptanmıştır.

NO'nun endojen olarak üretilebilen bir biyomolekül olduğunun gösterilmesinden sonra bu molekülün sentezi ve etkileri üzerinde yoğun araştırmalar başlamıştır. Bu konudaki araştırma makalelerinin sayısı 1987–88 yıllarında 40–50 iken 2000'li yıllarda on binlere ulaşmıştır. Diğer taraftan bu molekülün biyolojik fonksiyonlarının ve etkilerinin belirlenmesine yönelik çalışmalarda en önemli zorluğun çalışılan koşullarda arzu edilen derişimde NO temin edilememesi olarak yorumlanmıştır.

Enflamasyonda rol aldıkları düşünölen iNOS, NO ve bunların türevleri olarak düşünölen ürönlere karşı olan ilginin günümüzde artış gösterdiği bilinse de,²¹ NO'nun yara iyileşmesindeki görevinin henüz tam olarak anlaşılamadığı rapor edilmiştir.^{10,11} Ağız içi olmayan bölgelerdeki yara iyileşmesinin ise tüm detayları ile açıklandığı bildirilmiştir.²² Periodontal dokuların enflamasyonunda NO'nun görev aldığı bilinmesine rağmen, görevinin tam olarak açıklanabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu Lappin DF ve arkadaşları tarafından duyurulmuştur.²³

Bu çalışma, tüm bu bilgiler ışığında NO'nun ağız içi yara iyileşmesindeki aktivitesinin anlaşılması için planlanmıştır. Ağız içinde oluşturulan farklı yara türlerinde bireysel farklılıkları ortadan kaldıracak şekilde split-mouth olarak planlanmış ve oluşturulan farklı yara tiplerinin bilinen iyileşme potansiyelleri ile iNOS pozitifliğinin korelasyonunun incelenmesi ve ağız içinde NO'nun etkilerinin aydınlatılmasına yardımcı olunması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gingivektomi

Dişeti büyümelerinin supraalveolar cep oluşumunun ana nedeni olduğu ve gingivektominin en bariz endikasyonunun derin supraalveolar cep varlığı olduğu kabul görmüştür. Kemik içi veya krater tarzı kemik defekti varlığında ise gingivektomi işleminin uygulanmaması gerekliliği önemli bir unsur olarak vurgulanmıştır.⁵

2.2. Dişeti Büyümesi

Klinik olarak tespit edilebilen fibrotik dişeti büyümelerinin bir çok farklı etkene bağlı olduğu kabul görmüşse de, dişeti büyümesine ve dişeti büyümesinin şiddetlenmesine asıl neden olan etkenin lokal bakteri plağı olduğu öne sürülmüştür.¹ Dişeti büyümesinin oluşmasında enflamasyonun hazırlayıcı rolü olduğunu², ağızdan solunum yapan bireylerde gingivitisin ve dişeti büyümesinin görülme sıklığının arttığı bildirilmiştir.²⁴

Dişeti büyümesine neden olan farklı ilaçların klinik ve mikroskopik özelliklerinin benzer olduğu,²⁵ ilaca bağlı oluşan dişeti büyümelerinde genetik yatkınlığın önemli bir faktör olduğu açıklanmıştır.²⁶

Ayrıca, Fenitoin kullanan bireylerin yaklaşık %50' sinde dişeti büyümesinin meydana geldiği tespit edilmiştir.²⁵ Yapılan doku kültür deneylerinde epiteli ve fibroblast benzeri hücrelerin proliferasyonunu stimüle eden fenitoinin bu duruma neden olabileceği belirtilmiştir.^{27,28}

Selüler ve humoral immün cevapta rol oynayan yardımcı T hücrelerini, seçici ve geçici olarak baskıladığı tespit edilen Siklosporin A'nın günde 500 mg'dan fazla kullanıldığında dişeti büyümesine neden olduğu rapor edilmiştir.²⁹ Siklosporine bağlı oluşan dişeti büyümesi fenitoine bağlı oluşan dişeti büyümesinden daha fazla damarlanma içerdiği, siklosporin kullanan hastaların yaklaşık %30'unda dişeti büyümesi olduğu ve çocuklarda da daha sıklıkla görüldüğü bildirilmiştir.³⁰

Kalsiyum kanal blokörlerinin bazılarının dişeti büyümesine neden olabildiği, kullanımı en sık olan Nifedipin'in hastalarda dişeti büyümesi oluşturma oranının % 20 olduğu açıklanmıştır.^{31,32} Nifedipine kullanımına bağlı oluşan dişeti büyümesinin prevalansının yüksek olmasının yanında,³³ nadir olarak da, Amplodipin'in dişeti büyümesine neden olabildiği duyurulmuştur.³³⁻³⁵ Altı aydan fazla süre boyunca günde 5 mg amplodipin kullanan 150 kalp hastasında yapılan çalışma ile ilacın dişeti büyümesine neden olmadığı bildirilmiş,³⁵ ancak bu durumun tersi olarak Seymour ve arkadaşları en az 3 ay süreyle amplodipin kullanan ve periodontal durumları çok kötü olan 3 hastada dişeti büyümesinin görüldüğünü rapor etmişlerdir.³³ Genel olarak kalsiyum kanal blokörlerinin dişeti büyümesine neden olan potansiyel etiyolojik ajanlar olarak kabul gördüğü belirtilmiştir.³⁶ Siklosporin ile kalsiyum kanal blokörlerinin birlikte kullanıldığı durumlarda ise dişeti büyümesinin görülme insidansında artış olduğu tespit edilmiştir.³⁷⁻³⁹

Hamilelikte ise progesteron ve östrojen hormonlarının seviyelerinde menstural döneme oranla 10–30 kat artış olduğu, ⁴⁰ bu hormonal değişikliğin damarların geçirgenliğini değiştirip dişeti ödemeine neden olarak dental plağa karşı oluşan enflamatuvar cevabı arttırdığı ve ayrıca subgingival mikrofloranın da değişerek *Prevotella intermedia* oranında oluşan artış ile enflamasyonu şiddetlendirdiği belirtilmiştir ⁴¹.

Puberta döneminde dişetin lokal irritasyona karşı daha duyarlı olduğu ve yaş ile birlikte gerileme eğiliminde olan dişeti büyümelerinin prevalansının yüksek olduğu, 11–17 yaş arasındaki 127 çocuğun katıldığı uzun dönem bir çalışma ile gösterilmiştir. ⁴² Çocuklarda enflame dişeti bölgelerinin ortalama sayısı ile oral hijyen seviyeleri karşılaştırıldığında enflamasyon oluşumu ile oral hijyen faktörleri arasında bir ilişki olmadığı bir başka çalışma ile ortaya konmuştur. ⁴³

Direkt dişeti enflamasyonuna neden olmayan akut vitamin C eksikliğinin dişeti bağ dokusunda hemoraji, kollajen dejenerasyonu ve ödem oluşumuna sebep olarak dişetin plağa karşı oluşturacağı defansın zayıflamasına ve böylelikle enflamasyonun olması gerekenden daha abartılı bir şekilde oluşmasına neden olduğu bildirilmiştir. ^{44,45}

Piyojenik granülomanın minör bir travmanın neden olacağı durumun daha abartılı görünümündeki tümör benzeri dişeti büyümesi olduğu, ⁴⁶ tedavisinde doku ile birlikte irritasyona neden olan lokal faktörün de elemine edilmesi gerektiği, buna rağmen yaklaşık %15 oranında rekürrens görülebileceği rapor edilmiştir. ⁴⁷

Lösemi, granüloamatöz hastalıklar, sarkoidozis dişeti büyümesine neden olan sistemik hastalıklar olarak açıklanmıştır. Günümüzde dişetinde oluşabilecek benign tümoral büyümelerin epulis, fibroma, papilloma, periferal dev hücreli granüloma, santral dev hücreli granüloma, lökoplaki ve gingival kist, malign tümoral büyümelerin ise karsinoma ve malign melanoma olduğu kabul görmüştür. ⁴⁸

2.2.1. Dişeti Büyümesinin Nedenleri ⁴⁸

1. Enflamasyona bağlı dişeti büyümesi
 - A. Kronik
 - B. Akut
2. İlaça bağlı dişeti büyümesi
3. Sistemik hastalıklarla ilişkili dişeti büyümesi
 - A. Koşullu dişeti büyümesi
 - a) Hamilelik
 - b) Ergenlik
 - c) Vitamin C eksikliği
 - d) Plazma hücreli gingivitis
 - e) Nedensiz dişeti büyümesi (Pyojenik Granülom)
 - B. Sistemik hastalığın neden olduğu dişeti büyümesi
 - a) Lösemi
 - b) Granüloamatöz Hastalıklar (Wegener's Granüloatozis, Sarkoidozis)
4. Neoplastik dişeti büyümeleri (Gingival tümörler)
 - A. Benign tümörler
 - B. Malign tümörler
5. Yalancı dişeti büyümesi

2.3. Elektro Cerrahi

Elektro cerrahinin kapilleri ve lenf damarlarını mühürleyip kanamayı kontrol altında tutan,⁴⁹⁻⁵¹ böylelikle dokunun konturunun daha elverişli şekilde sağlanmasına izin veren bir yöntem olduğu bildirilmiştir.^{9,50-52} Dişeti büyümelerinin uzaklaştırılması, gingivoplasti, insizyon ve koagülasyon işlemlerinde düz, küçük lup veya elmas şekilli elektrotların aktivasyonu sağlanarak kısa tıraşlama hareketleri ile uygulamanın yapılacağı açıklanmıştır.⁴⁸

Günümüzde elektro koter teriminin hatalı olarak elektro cerrahi işlemleri için de kullanılmasına rağmen, elektro koter işleminde direkt akımın, elektro cerrahi işlemlerinde ise değişken akımın kullanıldığı, bu nedenle de elektro koter işleminde akımın hastanın vücuduna girmeyip sadece elektro cerrahi işlemlerinde hastanın sirkülasyona dahil olduğu ve akımın hastanın vücuduna girdiği belirtilmiştir.⁵³

2.3.1. Elektro Cerrahinin Avantaj ve Dezavantajları

Elektro cerrahi işlemlerinde cihaz elektromanyetik turunu tamamladığında elektrodun ucunun steril olacağı ve böylelikle enfeksiyon riskinin de azalabileceği bildirilmiştir.⁵⁴

Elektro cerrahinin doğal bir problemi olarak pis ve kötü kokunun oluşması gösterilmiş, ancak iyi bir havalandırma sistemi ile bu dezavantajın hafifletilebileceğine dikkat çekilmiştir.⁵⁵

Bazı araştırmacılar konvansiyonel cerrahi ile elektro cerrahi işlemleri sonrasında dişeti iyileşmesinde anlamlı bir farkın olmadığını rapor etmiş olsalar da,⁵⁶ elektro cerrahi işlemlerinde doku rezeksiyonunun kemiğe yakın olacak şekilde yapıldığında; konvansiyonel cerrahi sonrası oluşmayan kemik kaybının, dişeti çekilmesinin, sekestr atılımının, furkasyon problemlerinin ve mobilitenin oluşabileceği bulgulanmıştır.^{52,57-}
⁶⁰ Bu nedenle, elektro cerrahi uygulamalarının yüzeysel prosedürler ile sınırlandırılması gerekliliği önem kazanmıştır.⁵³

Elektro cerrahi uygulamalarında dokuda oluşabilecek iyileşme farklılıklarının, uygulama alanının genişliğine, elektrodun şekline, dalga formuna ve hızına bağlı olduğu⁵⁷ ve minimal invaziv işlem yapabilmek için dokunun düşük voltaj ile kesilmesinin önemli olduğu belirtilmiştir.⁵³ Dikkatsiz kullanıma bağlı oluşacak ısının, doku ve kemik hasarına neden olabileceği veya elektrodun kök yüzeyine deymesiyle sement dokusunda yanma meydana gelebileceği rapor edilmiştir.⁶¹ Elektro cerrahi işlemlerinin uyumsuz olan veya kalp pili bulunan hastalarda kontraendike olduğu da bildirilmiştir.^{52,58}

2.3.2. Elektro Cerrahinin Diş Hekimliğinde Kullanım Alanları

Elektro cerrahinin dişeti büyümelerinin uzaklaştırılması, gingivoplasti, frenulum ve kas ataçmanlarının yeniden lokalizasyonu ile periodontal apselerle perikoronar dokuların insizyonu gibi yüzeysel işlemlerle sınırlandırılarak ve diş yüzeyine temastan kaçınılarak kullanılabilineceği açıklanmıştır.

2.4. Yara İyileşmesi

Yara herhangi bir ajanın fiziksel bir hasar yaratmasıyla vücuttaki normal bütünlüğün bozulması olarak tanımlanmıştır. Akut yara iyileşmesi yaralanmanın başladığı andan itibaren hücresel, hümmoral ve moleküler aktivitelerin çok iyi koordine olarak yara iyileşmesinin sağlandığı olaylar silsilesi olarak açıklanmıştır.¹⁵ Yara iyileşmesinin hemostaz, enflamasyon, skar oluşumu ve remodeling fazlarını kapsayan iç içe geçmiş iyi koordine olmuş fazlardan oluştuğu bildirilmiştir.¹⁰⁻¹⁴ Enflamasyon ise, yeniden granülasyon dokusu ile epitelin oluşması ve koordineli biçimde salınan sitokin ve büyüme faktörlerinin kompleks bir karışım oluşturacak şekilde kısımlara ayrılması olarak yorumlanmıştır.¹²

2.4.1. Yara İyileşmesinin Histopatolojisi

Yara iyileşmesinin düzenli ve ardı ardına çalışan hücresel aktiviteleri aşağıdaki gibi açıklanmıştır,⁶³

1. Fagositoz
2. Kemotaksis
3. Mitogenez
4. Kollajen ve diğer matriks komponentlerinin

sentezi

Yaralanma sonrası ortaya çıkan doku defektinin fibrin, eritrosit ve lökosit içeren kan pıhtısı ile dolduğu kabul görmüştür. Yaralanmayı hemen takiben trombositlerin hasara uğrayan dokuya yapışıp pıhtılaşma faktörlerini ve granülleri içindeki büyüme faktörlerini salgıladıkları belirtilmiştir.⁶³

Kısa bir süre içinde polimorf nüveli lökositlerin çevredeki kan damarlarının endoteline yapışmaya (marjinasyon) ve damar duvarı içinden geçmeye (diapedez) başladıkları bildirilmiştir. Yıkıma uğrayan dokunun, bakterinin ve enflamatuar ürünlerin oluşturduğu kemotaktik sinyallerin Polimorf nüveli lökositleri yara bölgesine çektiği tespit edilmiştir. Polimorf nüveli lökositlerin ana görevi; yaralanan bölgeden bakteri ve yabancı cisimleri uzaklaştırıp iltihap gelişimini engellemek olduğu belirtilmiştir. ⁶³

Yara bölgesine ilk olarak gelen nötrofillerin de sadece yara bölgesinin sterilizasyonundan ve yıkımından sorumlu olduğu, doku tamirine yönelik bir katkı yapmadığı bildirilmiştir. ⁶⁴ İyileşme erken dönemde enflamasyon ile başladığında ilk 2–3 gün süresince yara bölgesini monosit ve makrofajların domine ettiği ve mikroorganizmaları, ölü parankim hücrelerini ve nötrofillerin nekrotik debrislerini ortadan kaldırdığı açıklanmıştır. ¹⁴ Makrofajların sadece debris, bakteri ve konağın dejenere hücrelerinin ortamdan uzaklaştırılmasından sorumlu olmadığı ayrıca zengin bir büyüme faktörü kaynağı olduğu belirtilmiştir. Makrofajların yara iyileşmesinde hücrelerin, büyüme faktörlerinin ve matriks komponentlerinin düzenli bir şekilde davranmalarını sağlayan orkestra yönetmenleri gibi olduğu vurgulanmıştır. ^{63,64}

Granülasyon dokusunda hemen her zaman bulunan makrofajlara ek olarak uygun kemotaktik stimulus varlığında nötrofillerin, eozinofillerin, mast hücreleri ve lenfositlerin de görüldüğü açıklanmıştır. ⁶³

Yaralanma bölgesinde fibroblastların aktif hale geldikleri ⁶⁵ ve yara bölgesinde 2. günden itibaren fibroblastların migre olup 4. günde oluşan granülasyon dokusunun major hücre tipini oluşturduğu

belirtilmiştir.¹⁴ Enflamasyon mediatörleri ve çözünebilir büyüme faktörleri tarafından uyarılan fibroblastların yara bölgesine başta migre oldukları, sonrasında da proliferasyon olarak çoğaldıkları rapor edilmiştir.^{65,66} Genellikle 3–5 güne kadar, nadiren de 24 saat gibi çok kısa bir süre sonra fibroblastların ve vasküler endotel hücrelerinin proliferasyon olarak yara iyileşmesinin temel özelliği olan “Granülasyon dokusu” nu meydana getirdiği açıklanmıştır.⁶³ Akut yara iyileşmesinin enflamasyon fazında, doku tamirinde önemli bir rol oynayan doku büyüme faktörlerinin etkili olabilmesi için 5–7 günün gerekli olduğu, ancak fibroblast proliferasyonunun pik seviyesine ulaşmadan önce TGF- β ' nın (transforming growth factor-beta) akut yara bölgesine ulaşarak etkili olduğu bildirilmiştir.⁶⁷⁻⁶⁹

Yaralanma olduğu andan itibaren dokuyu tamir etmek için aktive olan sellüler ve moleküler proseslerin, biyolojik ve mekanik sinyallerin kontrolü altında gerçekleştiği açıklanmıştır.¹⁴ Enflamasyonun erken fazında saatler içerisinde nötrofil ve monositlerin, 3 gün içerisinde, enflamasyonun geç döneminde de makrofajların bölgede baskın hale geldiği bildirilmiştir.⁷⁰ Organizma için kritik bir proses olduğu kabul gören yara iyileşmesinin iki önemli olay olarak epitelizasyonun ve granülasyon dokusunun yeniden oluşması gösterilmiştir. Ağız içinde oluşan yaraların diğer yaralara (cilt yaraları gibi) nazaran daha iyi iyileştiği yaygın olarak kabul edildiği ifade edilmiştir.⁶⁵

Yara iyileşmesi epitelyal hücrelerin yara kenarından migre olduğu, fibrin, fibronektin ve vitronektin karışımının geçici ekstrasellüler matriksi oluşturduğu kompleks bir fenomen olarak açıklanmıştır.^{22,65,71} Doku yaralanması sonucu epitelin devamlılığı bozulduğunda doku bütünlüğünü yeniden sağlamak amacıyla olabildiğince hızlı bir şekilde

reepitelizasyon işleminin gerçekleşmesi gerekliliği bildirilmiştir. ⁶⁵ Keratinositlerin görevinin yara iyileşmesi sırasında açığa çıkan bağ dokusunun hızlı bir şekilde örtülmesi olduğu belirtilmiştir. ^{72,73} Normal bağ dokusunda fibroblastların hareketsiz, proliferasyon hızlarının ve metabolik aktivitelerinin yavaş oldukları, ancak yaralanma ile birlikte, fibroblastların aktif hale geçip gen yapılarının değiştikleri bildirilmiştir. ⁶⁵

Granülasyon dokusunun inaktif görünümde iğsi şekilli fibroblastlar, yoğun kollajen demetleri, elastik doku fragmanları, ekstrasellüler matriks ve az sayıda damardan oluşan skar dokusuna dönüştüğü ⁶³ ancak, ağız mukozasındaki yaraların ağız dışındaki yaralara nazaran daha hızlı iyileştiği ve iyileşirken daha az skar dokusunun oluştuğu genel kanı olarak ortaya konulmuştur. ^{65, 74,75}

İyileşen yaralarda akut inflamasyonun son bulmasına rağmen görülen ödemin sebebinin interendotelyal birleşiminin (junction) gevşek olması sonucu yeni tomurcuklanan damarların geçirgenliğinin artması ve böylelikle protein ile kırmızı kürelerin ekstrasellüler aralığa çıkması olduğu açıklanmıştır. ⁶³

Doku tamirinin son fazının örnekleme (remodeling) olduğu ve yaralanma sonrası doku bütünlüğü sağlanıncaya dek, hatta yıllar boyunca sürebileceği bildirilmiştir. ⁶³

2.4.2. Gingivektomi Sonrası Yara İyileşmesi

Gingivektomi sonrası yara iyileşmesinin sekonder yara iyileşmesi olduğu, yaralanma sonrası vücudun bütünlüğünü koruyabilmek için yara iyileşmesinin de esas olduğu rapor edilmiştir. ^{10,11}

Yara yüzeyini koruyucu pıhtı oluşumunun ilk cevap olduğu, pıhtının altında kalan dokunun akut olarak enflame hale geldiği ve biraz nekroze olduğu, sonrasında da pıhtının granülasyon dokusu ile yer değiştirdiği bildirilmiştir. ⁴⁸ Enflame yumuşak dokunun eksizyonunu takip eden birkaç gün içerisinde epitel hücrelerinin yara yüzeyine doğru migre olmaya başladığı tespit edilmiştir. ⁵

Yirmi dört saat boyunca enflame ve nekrotik yüzeyin altında yeni bağ doku hücrelerinin artış gösterdiği, 3. güne kadar sayısız genç fibroblast hücrelerinin bölgede belirdiği açıklanmıştır. ⁷⁶ Zengin damarlanmaya sahip granülasyon dokusunun koronale doğru yeni serbest dişeti kenarını ve sulkusu oluşturmak üzere ilerlediği, ⁷⁷ periodontal ligament damarlarında türeyen kapillerin granülasyon dokusuna doğru migre olarak 2 hafta içinde gingival damarlarla bağlantı kurdukları belirtilmiştir. ⁷⁸ Hamp ve arkadaşları (1975) plaksız diş yüzeyleri etrafında gerçekleşen yara iyileşmesinin serbest dişetinin tüm karakteristik özelliklerini yansıtan bir iyileşme olacağını rapor etmişlerdir. ⁷⁹

Yara kenarındaki epitel hücrelerinin 12–24 saat içinde granülasyon dokusunun üzerine doğru migrasyona başlayıp, kontamine pıhtıdan yara yüzeyini ayırdıkları, marjindeki epitel aktivitesinin ise 24–36

saatler arasında en üst seviyeye ulaştığı rapor edilmiştir. ⁸⁰ Yeni epitel hücrelerin yara kenarının bazal veya derin spinoz tabakalarından yara yüzeyine doğru yükseldiği, yara yüzeyinin üstüne doğru migre olduğu ve daha sonra rezorbe olup yerini bağ dokuya bırakacak fibrin tabakasını oluşturduğu bulgulanmıştır. ⁸¹

Gingivektomi işlemi sonrasında oluşan yaranın yüzey epitelizasyonunun genellikle cerrahi takip eden 7–14 gün içerisinde tamamlandığını Engler ve arkadaşları ile Stahl ve arkadaşları rapor etmişlerdir. ^{80,82} Takip eden haftalarda yeni dento-gingival birleşimin gerçekleştiği açıklanmıştır. ⁵

Waerhaug, supraalveolar dokudaki fibroblastların komşu diş yüzeyine proliferere olduğunu ve yeni bağ dokusunun oluşumuna destek verdiğini rapor etmiştir. ⁵ Bağ dokunun tam iyileşmesinin ise yaklaşık 7 haftayı bulduğu bildirilmiştir. ⁸³ İyileşmenin 4. gününden itibaren vazodilatasyon ve damarlanma azalmaya başlayarak 16. gününde hemen hemen normal görünümüne ulaştığı açıklanmıştır. ⁸⁴

İnsanlarda dişeti sıvısı akışının gingivektomi sonrası artış, iyileşme süresince ise azalma gösterdiği, ^{85,86} cep sıvısının maksimum seviyesine ise enflamasyonun en çok artış gösterdiği 1. haftanın sonunda ulaştığı tespit edilmiştir. ⁴⁸

Gingivektomi işleminden sonraki ilk 4 haftada keratinizasyon seviyesinin cerrahi öncesine göre daha az seviyede olduğu ve epitel iyileşmesinin tam olarak tamamlanabilmesi için yaklaşık 1 ay gibi bir

zamana ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. ⁸³ Ramfjord ve arkadaşları, gingivektomi yarasının tamamen iyileşmesinin 4–5 haftayı bulabileceğini, hatta yaklaşık 14 gün sonunda dişeti yüzeyinin klinik görünümünün hala iyileşiyor gibi görünebileceği bildirilmiştir. ⁸⁷

Bununla birlikte, gingivektomi sonrasında oluşan doku değişimine rağmen bütün bireylerde iyileşmenin benzer olduğu, ancak iyileşmenin tamamlanabilmesi için gereken sürenin değişiklik gösterebileceği, iyileşme süresinin cerrahinin uygulandığı bölgeye, lokal irritasyona ve enfeksiyona bağlı olarak değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. ⁴⁸

2.4.3. Elektro Cerrahi Sonrası Yara İyileşmesi

Bazı araştırmalar geleneksel periodontal cerrahi ve elektro cerrahi yöntemleriyle yapılan rezeksiyonlardan sonra dişeti iyileşmesinde anlamlı fark olmadığını bildirmişlerdir. ^{88,89} Başka araştırmacılar ise, elektro cerrahi sonrasında iyileşmede gecikme, dişeti yüksekliğinde önemli derecede azalma ve daha fazla kemik yaralanması olduğunu rapor etmişlerdir. ⁵⁸ Geleneksel periodontal cerrahiyle ya da elektro cerrahiyle yapılan yüzeysel dişeti rezeksiyonlarının iyileşmesinde az bir fark olduğu sonuç olarak tespit edilmişse de, derin rezeksiyon işlemlerinde kemiğe yakın seviyelerde elektro cerrahi işleminin uygulanması ile periodontal bıçakların kullanımıyla ortaya çıkmayacak; dişeti çekilmesi, kemik nekrozu ve sekestri, kemik yüksekliğinin azalması, furkasyonun açığa çıkması ve dişin mobilite kazanması gibi komplikasyonların oluşumuna sebep olunabileceği vurgulanmıştır. ^{52,59}

2.5. Nitrik Oksit

Louis J. Ignarro ve arkadaşları, 1980 yılında Robert E. Furchgott ile J. V. Zawadzki tarafından tanımlanan “Endotel Kaynaklı Gevşeme Faktörü”nün aslında Nitrik Oksit olduğunu göstermişlerdir.⁹⁰

Renksiz bir gaz olan NO; moleküler, hücresel ve fizyolojik olaylarda rol oynayan, kısa ömürlü ve serbest radikal özelliğine sahip basit bir moleküldür.^{10-13,19,90-94} Son zamanlarda yapılan araştırmalar sonucunda NO' in çeşitli tipteki yaraların iyileşmesinde önemli bir role sahip olabileceği bildirilmiştir.¹⁹

Önceleri toksik bir molekül olarak adlandırılan NO'nun,⁹³ yaklaşık 20 yıl önce keşfedildiğinden bu güne kadar geçen sürede,⁹² yara iyileşmesinde protein faktörlerinin ve mitojenlerin dışında NO gibi küçük difüze olabilen moleküllerin de önemli rol oynadığı kanıtlarla ortaya konmuştur.^{12,92,93} Hem insan hem de hayvan çalışmalarından elde edilen veriler ışığında, protein mediatörlerinin yanı sıra NO'nun da yara iyileşmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir.¹²

Önce endotel hücre-damar düz kasları arasında sinyal molekülü olarak tanımlanan NO'nun, daha sonra düzenleyici, koruyucu ve sitotoksik etkilerinin de bulunduğu belirlenmiştir.⁹¹ Yara iyileşmesinin erken döneminde, iNOS ve eNOS tarafından sentezlenen NO'nun sitostatik ve kemotaktik etki göstererek hücrelerin farklılaşmasında rol oynadığı,^{13,19} bunun yanında yüksek konsantrasyonlardaki NO'nun ise sitotoksik olduğu rapor edilmiştir.⁹³ Ortamdaki NO derişiminin göstereceği

etkiyi belirlediği, düzenleyici ve koruyucu etkilerinin doğrudan biyomoleküllerle etkileşimi sonucu gerçekleştiği, toksik etkilerinin ise, NO'nun kendiliğinden oksidasyonu sonucu oluşan reaktif türlerin oluşumuyla dolaylı olarak gerçekleştiği belirtilmiştir.⁹¹

2.5.1. Nitrik Oksit Sentaz Enziminin İzofomları

1989 yılında NO sentezleyen bir enzimin varlığı gösterilmiş, Nitrik Oksit Sentaz (NOS) olarak adlandırılan enzimin cDNA' sı kısa sürede kopyalanıp yapısı ve katalitik özellikleri belirlenmiştir.⁹¹ Enflamasyon mediatörlerinden biri olan NO'nun salınımını sağlayan NOS enziminin iki temel olmak üzere toplam üç adet izoformunun (izoenzim) bulunduğu bildirilmiştir;^{23,91,95-100}

1. Konstitütif NOS (cNOS)
 - a. Endotelial NOS (eNOS, NOS III); endotel kaynaklı gevşeme faktörünün (EDRF) sentezinden sorumlu olduğu,
 - b. Nöronal NOS (nNOS, NOS I); merkezi sinir sistemi ve nöronlarda haberci molekül olarak kullanılan NO' in üretiminden sorumlu olduğu,
2. İndüklenebilir NOS (iNOS,NOS2); immunolojik uyarılarla indüklendiği ve bütün çekirdekli hücrelerde bulunduğu açıklanmıştır.

Her üç NOS izoformunun aktivasyonu için kalmoduline bağlanması gerektiği tespit edilmiştir.¹⁰⁰ Hücre içi Ca^{++} düzeyi artığında cNOS' un kalmodulinle bir kompleks oluşturup aktive olduğu, ancak iNOS'

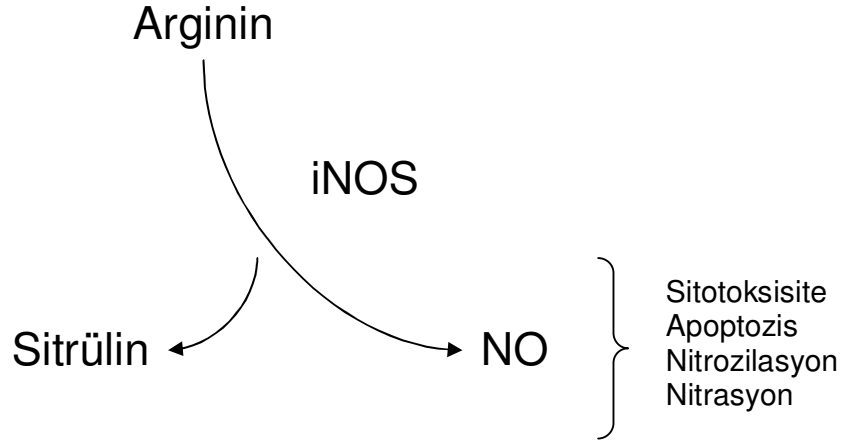
un aktivasyonu için hücre içi Ca^{++} artışının gerekli olmadığı açıklanmıştır.^{90,100} Bu özelliği ile iNOS' un diğer izoformlardan ayrıldığı ve indüklenmemiş hücrelerde iNOS aktivitesinin çok düşük veya ölçülemeyecek kadar az olduğu bildirilmiştir.⁹⁰

Az ve aralıklı salınan cNOS' un aktivasyonunun fizyolojik olayların düzenlenmesinde, yüksek miktarlarda ve sürekli salınan iNOS' un ise patolojik olaylarda rol oynadığı açıklanmıştır. cNOS aktivasyonu için esas fizyolojik uyarının kan akışının damar duvarına yaptığı baskı olduğu belirtilmiştir.¹⁰⁰

İlk kez iNOS izoformunun makrofajlardan saflaştırıldığı ve iNOS sentezini lipopolisakkaritler gibi çeşitli bakteriyel ürünler ile interferon- γ , IL-1, IL-2, TNF- α gibi enflamatuvar sitokinlerin indüklediği bildirilmişse de; iNOS' un sadece fagositik lökositlere özgü bir enzim olmadığı ve uygun indüksiyon sağlandığında bütün çekirdekli hücrelerden sentezlenmesinin mümkün olacağı rapor edilmiştir.^{90,101}

2.5.2. Arginin Amino Asidinden Nitrik Oksitin Sentezi

NO'nun sentezi için kullanılan öncül biyomolekülün arginin aminoasidi olduğu belirlenmiştir. NO'nun iNOS enzimi aracılığı ile L-arginin'in L-sitrülin'e dönüşmesi esnasında (Şekil 1) işleyen proseslerde ortaya çıktığı bildirilmiştir.¹⁰² Diğer taraftan bu mekanizmanın L-arginin'in L-ornitin'e dönüşümü ile sonuçlandığında, NO yerine arginaz enziminin ortaya çıktığı ve arginazın da arginin kullanımında NO ile yarışıp NO üretimini azalttığı belirtilmiştir.¹⁰³



Şekil 1: iNOS indüksiyonu ile NO oluşumu ¹⁰⁴

2.5.3. Nitrik Oksitin Görevleri ve Metabolizmadaki Rolü

NO'nun sentezlendiği yerin ve ortamdaki derişiminin hangi tür tepkimelere gireceğini ve ne gibi biyolojik etkilere sahip olacağını belirleyen ana faktörler olduğu rapor edilmiştir. ⁹¹

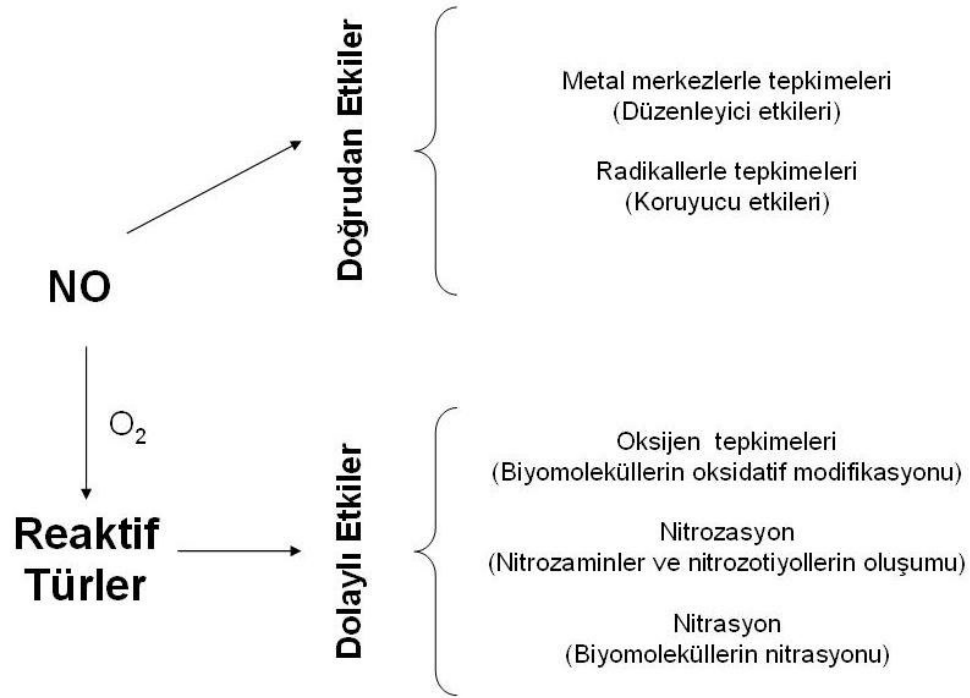
Enflamasyon hücresi olan nötrofil ve makrofaj tarafından salgılanan NO'nun immün düzenlemede ve enflamasyonda önemli rolü olduğu belirlenmiştir ¹⁰⁵⁻¹¹⁰. NO'nun vasküler regülasyondan, nöronal fonksiyonların modülasyonuna kadar pek çok fizyolojik olayda rol oynayan bir hücre içi habercisi olduğu, bilinen en önemli etkisinin de vasodilatasyon olduğu rapor edilmiştir ¹¹¹⁻¹¹⁵. Fibroblastlar, osteoblastlar, osteoklastlar ve makrofajlar gibi çok sayıda hücrenin fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli role sahip bir molekül olarak kabul edilen NO'nun üretimindeki azalma ve artmanın organizma için son derece önemli hastalıklara yol açabileceği belirtilmiştir. ¹⁰⁷⁻¹¹¹ NO üretiminin azaldığı durumlarda vasküler

disfonksiyon hastalıkları, NO üretiminin arttığı durumlarda ise septik şok, diabetes mellitus, nörodejenerati gibi hastalıkların ortaya çıktığı tespit edilmiştir. ^{111,116}

NO'nun düşük derişimlerinde (1 μM ' in altında) ortaya çıkan etkiler doğrudan etkiler olarak adlandırılmış ve NO' in koruyucu ve düzenleyici etkilerinin doğrudan etkileri grubuna girdiği bildirilmiştir. Ayrıca düşük derişimdeki NO'nun daha uzun ömürlü olduğu ve oksijen ile tepkimelerinin de daha yavaş olduğu rapor edilmiştir. ⁹⁰

NO'nun fizyolojik fonksiyonları için gerekli olan derişimin üstündeki yüksek derişimlerde (1 μM ' in üzerinde) ortaya çıkan etkiler ise, dolaylı etkiler olarak adlandırılmıştır. Bu durumda oksijenle tepkimelerinin hızlandığı, NO'nun oksidasyonu ile reaktif türlerin oluştuğunu ve bu reaktif türlerin biyolojik moleküllerle tepkimeye girerek dolaylı etkilerin ortaya çıkmasına neden olduğu bildirilmiştir. ⁹⁰

NO'nun biyomoleküllerle tepkimeleri doğrudan etkilerini oluştururken; NO kaynaklı reaktif türlerin tepkimelerinin ise dolaylı etkileri oluşturduğu vurgulanmıştır (Şekil 2). Ayrıca NO üreten kaynağa yakın olan hücrelerde yüksek NO derişimi nedeniyle dolaylı etkilerin daha yaygın olarak görülebileceği öne sürülmüştür. ⁹⁰



Şekil 2: NO'nun etki mekanizmaları

NO'nun trombositlerde guanozin monofosfat (GMP) yapımını arttırarak trombosit agregasyonunu inhibe ettiği ve kan akımının devamlılığını sağladığı açıklanmıştır. Ayrıca NO'nun fizyolojik hemostazi koruyucu özelliklerinin yanı sıra, enflamatuar hastalıklarda hem koruyucu hem de zararlı etkileri olduğu ortaya konmuştur.¹¹⁷

Bakteri, mantar gibi hedef hücrelere difüze olabilen NO'nun iNOS tarafından üretiminin, aktive makrofajların hedef hücre üzerindeki sitostatik / sitotoksik rolü için önemli bir mekanizma olduğu, ayrıca NO'nun hedef hücrenin DNA sentezinde ve solunum döngüsünde rol alan anahtar enzimlerin merkezindeki demir sülfür ile kombinasyonu sonucunda sitostatik / sitotoksik etki oluşturduğu rapor edilmiştir.¹¹⁷

Yüksek konsantrasyonlardaki NO'nun oksijenle reaksiyona girerek peroksinitrit bileşimini oluşturup, peroksinitritin aşırı miktarlara ulaşması ile sitotoksik etki gösterebileceği belirtilmiştir. ^{111,118,119}

Bazı araştırmacılara göre NO'nun antioksidan özelliğinin olduğu,¹²⁰ bu hücre koruyucu etkinin, apoptozis olayında sitokinlerin sebep olduğu, doku hasarında rol oynayan hipervalant metalloprotein bileşikleri ile reaksiyona girerek, hücre içine demir (Fe) salımını kontrol etmesi neticesinde ortaya çıktığı bildirilmiştir. ¹¹¹ Bunun yanı sıra NO'nun lipid hiperperoksitleri ile reaksiyona girerek de hücre koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. ¹²¹ Bu yöndeki diğer bir etkinliğin ise, lipooksijenazdaki Fe molekülünün redoks durumunu modüle ederek enzimin aktivasyonunu sağlaması ve araşidonik asit metabolizmasını inhibe etmesi olduğu tayin edilmiştir. ¹¹¹ Steward ve arkadaşları da NO'nun nitroksit iyonu (NO⁻¹) ile sitotoksik, nitrozonyum iyonu (NO⁺) ile hücre koruyucu etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. ¹²²

NO'nun mast hücrelerinde ve trombositlerde proenflamatuar mediatörlerin yapımını inhibe ederek antiadezif etki gösterdiği saptanmıştır. ^{123,124} Vazodilatasyon, enflamasyon, ECM proteinlerinin sentezi, proteazların aktivasyonu ve kemik metabolizmasının modelasyonuna katıldığı bilinen NO'nun,¹²⁵⁻¹²⁸ kollajen sentezini inhibe etmek suretiyle matriks metalloproteinaz (MMP) aktivitesini teşvik edip kollajen döngüsünü etkilediği bildirilmiştir. ^{126,127}

NO'nun birçok memeli hücrelerinden ve nötrofillerden salındığı,¹²⁹⁻¹³³ bununla birlikte NO, NOS, N-nitro-L-arginin metil ester (L-

NAME)' in nötrofil kemotaksisini regüle ettiği ya da kemotaksise dahil olduğu tespit edilmiştir. ¹³²⁻¹³⁵

Akut ve kronik enflamasyona katıldığı bilinen NO'nun, ¹³⁶⁻¹³⁸ özellikle bakteriyel enfeksiyonlar sonucu NOS'u teşvik eden nötrofillerdeki artış neticesinde, dişeti oluğu sıvısında bulunan nötrofillerden periferel kandaki nötrofillere nazaran daha büyük miktarlarda üretildiği rapor edilmiştir. ¹³⁹

Son yıllarda yapılan çalışmalarda periodontal ligament fibroblastlarında (PDLF) çok zayıf güçte NO sentezi görüldüğü, dişeti fibroblastlarında da (DF) NO sentezi oluşabildiği ve bunun sonucunda da nötrofillerden başka bir hücre olan fibroblastlarda NO'nun var olduğu gösterilmiştir. ¹⁴⁰

PDLF ve DF arasındaki fonksiyon farklarının ve dolayısıyla periodontal ligament PDL'de kollajen döngüsünün dişetinden daha hızlı olmasında NO'nun aday molekül olduğu hipotezine yönelik Van der Pauw ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, pulsating fluid flow (PFF) uygulamasıyla NO, prostaglandin E₂ (PGE₂) ve non-spesifik alkalın fosfataz (TNAP) aktivite düzeyindeki değişiklik araştırılmış, kültüre edilmiş PDLF ve DF hücrelerine PFF uygulamasını takip eden 5, 10, 30, 60. dakikalarda ölçümler yapılmış ve 60 dakika süresince PDLF tarafından NO salınmasında artma gözlemlendiği, bunun aksine DF tarafından NO salınmasında bir değişiklik gözlenmediği bildirilmiştir. Bu sonuçlar ile PDLF ve DF arasındaki farklılığın NO'dan kaynaklandığı vurgulanmıştır. ¹⁴⁰

Kikuri ve arkadaşları PDL hücrelerinin NO salgılayıcı yeteneğini ve mekanik gerilim güçlerinin NO üretimine etkilerini high-pressure liquid chromatography (HPLC) yöntemi ile incelemişler ve sonuç olarak cNOS tarafından NO üretildiğini ve hücrelerde NO üretiminin arttığını bulmuşlardır.¹⁴¹ Cerrahi kesi sonucu oluşan gerilim stresinin osteoblastları da aktive ettiği ve cNOS' un mRNA' ya cevaben NO ürettiği belirtilmiştir.¹⁴²

Matsuo ve arkadaşları stres faktörlerinden bir tanesi olarak kabul edilen ortodontik diş hareketleri için uygulanan basınç ile kulture PDLF'ları arasında NO sentezi açısından bir korelasyonun olup olmadığını araştırmak için; 0, 25, 50, 75, 100 mm Hg basınç derecelerini kulture PDLF hücrelerine uygulamışlardır. Basınç dereceleri 0, 25, 50 mm Hg olduğunda kulture fibroblastların NO aktivitesinde herhangi bir artış gözlenmemişken, basınç 75, 100 mm Hg olduğunda NO sentezinin, PDLF'larında üç kat arttığı tespit edilmiştir. Ortodontik diş hareketlerinde NO'nun regülasyonda anahtar rol aldığı ve alveoler kemik ile dişler için oldukça koruyucu bir role sahip olduğu belirtilmiştir.¹⁴³

Stresin fibroblastlar üzerindeki etkisi dışında makrofajlara olan etkisi de inceleyen çalışmalarda bazı deneysel stres uygulamalarının makrofajlarda farklılaşmayı ve migrasyonu engellediği gösterilmiştir.^{144,145} Shapira ve arkadaşlarının fare makrofajlarının strese etkilenip etkilenmediklerini öğrenmek için yaptıkları çalışmada ise, stres altındaki makrofaj sayısında azalma tespit etmişler, farelerde de NO sekresyonunun periodontal dokulardaki yıkımı arttırdığını rapor etmişlerdir.⁵⁶

Amin ve arkadaşları ile Milano ve arkadaşları tetrasiklinlerin makrofajlardan NO sentezlenmesini azalttığını ya da engellediğini göstermişlerdir.^{147, 148}

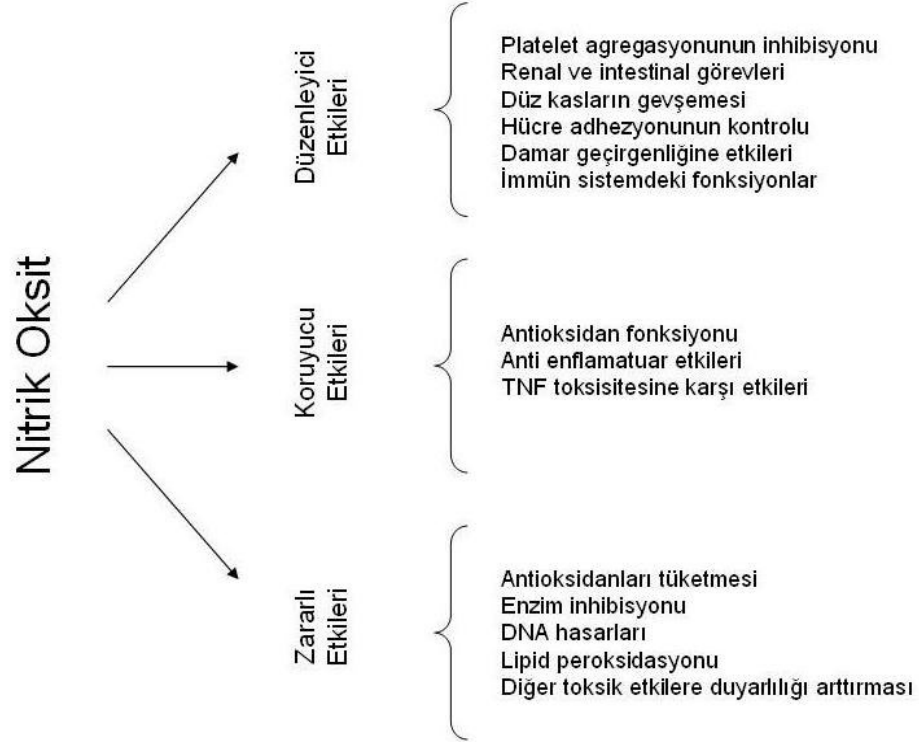
NO üretiminin kontrolü sayesinde dokudaki enflamatuvar hücrelere cevaben oluşan yaralanmanın ve enflamasyonun regüle edilebileceği bildirilmiştir.¹⁴⁹⁻¹⁵¹

NO'nun tükürükteki varlığı da rapor edilmiştir.¹⁵²⁻¹⁵⁴ Tükürükteki varlığının çoğunluğunu tükürük bezlerinden salgılanan NO'nun oluşturduğu ve NO'nun tükürüğe doğal anti bakteriyel özellik sağladığı belirtilmiştir.¹⁵⁵ Dolayısıyla tükürükteki NO miktarının azalmasının tükürüğün anti bakteriyel özelliğini azaltacağı açıklanmıştır.¹⁵⁶

NO'nun bağ doku mekanizmasında geniş bir alanda etkinliğe sahip olduğu,¹⁵⁷⁻¹⁵⁹ ayrıca PDL yüzeyinin korunmasında da etkili olduğu bulunmuştur.¹⁶⁰

Osteoblastlarla NO ilişkisini araştıran Johnson ve arkadaşları interstisyel sıvı akışındaki artışın, rat kafası osteoblastlarında NO üretimini arttırdığını ve böylelikle kemiğin şekillenmesinde rolü olduğunu savunmuşlardır.¹⁶¹ Smalt ve arkadaşları sıvı akışındaki artmaya bağlı olarak damar duvarında oluşan stresin rat kafatası ve uzun kemik hücrelerinde NO ve PGE₂ üretimini arttırdığını belirtmişlerdir.¹⁶² Burger ve arkadaşları basınçlı sıvı akışı sonucunda NO sentezindeki artışın, periostal fibroblastlardan kaynaklanmadığını ve osteositler tarafından in vitro ortamda sentezlendiğini göstermişlerdir.¹⁶³ Macintyre ve arkadaşları

NO'nun osteoklastların oluşturduğu kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir. ¹⁶⁴



Şekil 3: NO'nun Biyolojik Etkileri

2.5.4. Nitrik Oksit Difüzyonu

NO'yu organizmadan uzaklaştıran başlıca mekanizmanın oksihemoglobin ile girdiği reaksiyon olduğu, bunun sonucunda da nitrat ve metahemoglobinin ortaya çıktığı tespit edilmiştir. ^{90,111} Bu reaksiyonun hızının difüzyon limitine yakın olduğu ve NO'yu ortamdaki uzaklaştıran en etkili mekanizma olduğu belirtilmiştir. ⁹⁰

NO'nun üretildiği kaynaktaki derişimi ile difüzyonu ve yarı ömrü arasında ters bir ilişki olduğu, bunun nedeninin NO derişiminin artmasıyla oksidasyon tepkimelerinin hızlanması ve böylelikle yarı ömrün ve difüzyonun azalması olduğu bildirilmiştir. Oksidasyon tepkimeleri ile oluşan reaktif türlerin biyomoleküllerle tepkimeye girmesi sonucunda NO üretiminde meydana gelen artışın NO'nun sitotoksik etkisini arttırdığı saptanmıştır.⁹⁰

NO'nun kısa ömürlü olmasından sorumlu olan mekanizmalar;⁹⁰

1. NO moleküllerinin kendi aralarında ve oksijen ile tepkimeye girmesi,
2. NO'nun aerobik ortamda oksitlenerek kendi derişimini azaltması ve oluşan yeni nitrojen oksit türlerinin biyomoleküllerle çok hızlı tepkimesi sonucu nitrit ve nitrat gibi daha stabil türlerin oluşması olarak gösterilmiştir.

2.5.5.Yara İyileşmesi ve Nitrik Oksit

Yara iyileşmesinde iNOS aktivitesinin sadece ilk 48–72 saatleri arasında belirlenebildiği tespit edilmiştir.^{11,22} Yaralanmadan 6–24 saat sonra, çoğu makrofajlardan salınmış iNOS antijeninin yarada görüldüğü,^{10,22} iNOS pozitif makrofajların yarada sıklıkla 3–5. günler arasında azalma gösterdikleri bildirilmiştir.²² Yaradaki çoğu makrofajların 10. günde iNOS için negatif olduğu,^{11,22} bununla birlikte yaralanma sonrasındaki proliferatif fazda birçok hücrenin NO sentezine katıldığı belirtilmiştir.¹⁰

Yara iyileşmesinin erken fazında iNOS' un salınımı var olan makrofajların sınırlandırılmasına, geç dönemde ise yara sıvısındaki komponentlerin makrofajlardaki iNOS indüksiyonunun baskılanmasına neden oldukları rapor edilmiştir. ²² Polimorfonükleer lökositlerin de yara iyileşmesinde iNOS aktivitesine az da olsa katkıda bulunduğu kabul görmüştür. Akut yaralarda iNOS' un salımının yara oluşumunun başlangıcından 24–72 saat sonrasını kapsayan polimorfonükleer lökositlerin infiltrasyon periyodu ile sınırlı olduğu kabul görmüştür. ²²

Yara iyileşmesinde NOS' un salımının kollajen birikimi açısından önemli olduğu, yaranın mekanik direncinin artmasına katkı sağlayıp, hücre proliferasyonuna da çeşitli yollarla etki ettiği hayvan modellerinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. ^{10,11,22}

Yara iyileşmesinde NOS seviyesini ayarlayan sistemlerin yaranın geç döneminde arginaz ile ekstrasellüler L-argininin seviyesini düşürdüğü, ekstrasellüler sıvıda bulunan faktörlerin erken dönemde makrofajlardan salınan iNOS' u sınırladığı, geç dönemde ise makrofajlarda iNOS indüksiyonunu baskıladığı gösterilmiştir. ²²

2.5.6. Periodontal Hastalıklarda Nitrik Oksit

Periodontal hastalıklardaki iltihabi mediatörlerden biri olarak kabul edilen NO'nun vasodilatasyon ve doku hasarına neden olabileceği belirtilmiştir. ^{22,102} iNOS lokalizasyonunun araştırıldığı bir çalışmada sağlıklı ve periodontitisli bireylerden, periodontitisli 16 hastadan periodontal cerrahi sırasında, sağlıklı 5 hastadan da kron uzatma işlemi

esnasında alınan doku biyopsileri incelenmiş, sonuç olarak periodontitisli bireylerde sağlıklılara oranla iNOS düzeyleri daha yüksek bulunmuştur.²³

Normal dokularda cNOS' un iNOS' a göre daha yüksek seviyede bulunduğu belirlenmişse de,¹⁶⁵ NO' in periodontal dokulardaki kesin fonksiyonları hala tam olarak bilinmemekle birlikte, kollajen fagositozunun şekillenmesinde rol oynayabileceği bildirilmiştir.¹⁶⁶

Enflame dokularda NO sentezinin arttığı, yapılan insan ve hayvan çalışmalarında bulgulanmıştır.^{167,168} NO sentezinin makrofajların bölgeye göçü sonucu periodontal hastalıkta artış gösterdiği yine yapılan hayvan ve insan deneylerinde gösterilmiştir.^{92,93} Lohinai ve arkadaşları ratlarda oluşturdukları deneysel periodontitis sonucunda periodontal dokulardaki iNOS aktivitesinin arttığını rapor etmişlerdir.¹⁶⁸ Steril hayvanların dişetinde iNOS aktivitesinin olmadığı tespit edilmesinden bu yana iNOS aktivitesine bakteri plağının sebep olabileceği belirtilmiştir.^{92,169} Ayrıca son çalışmalar kronik periodontitiste gingival fibroblastlardan salınan iNOS sağlıklı dişeti dokularından çok daha fazla olduğunu göstermiştir.⁹²

Matejka ve arkadaşları 21 periodontitisli ve 16 sağlıklı bireyden almış oldukları dişeti örneklerini floresan dedektörlü high-pressure liquid chromatography (HPLC) tekniği ile incelemişler ve NO sentezinin enflame periodontal dokularda arttığı saptamışlardır. NO sentezindeki artışın O₂ varlığında L-arginin'in L-sitrulin'e dönüşümü sebebiyle olabileceğini öne sürmüşlerdir.¹⁶⁷

Sağlıklı ve periodontitisli bireylerden alınan doku biyopsileri üzerinde, immunohistokimyasal olarak iNOS lokalizasyonu çalışılmış ve periodontitisli bireylerde sağlıklılarla oranla iNOS dzeyelerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.¹⁷⁰

zmeri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 20 kronik periodontitisli ve 15 sağlıklı hastadan alınan tükürük örnekleri total protein miktarını tayin edebilmek için spektrofotometrik analiz yöntemi ile ölçülmüştür. Sonuç olarak periodontitisli hasta grubunun total protein miktarında belirgin bir artış olmadığını, arginaz miktarında ise belirgin bir artış olduğunu tespit etmişlerdir. Periodontitisli hastalarda gözlenen yüksek tükürük arginaz aktivitesinin poliaminlerin üretiminde artışa yol açarak bakterilerin büyümesine ve dolayısıyla hastalık sürecine katkıda bulunduğunu ne sürmüşlerdir.¹⁷²

zmeri ve arkadaşlarının yaptıkları uzun dönem başka bir çalışmada ise, kronik periodontitisli 26 hastaya uyguladıkları periodontal tedaviler sonrasında alınan örneklerde iNOS pozitifliğinde azalma tespit etmişlerdir.¹⁷²

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi ve Klinik Değerlendirme

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Kliniği'ne başvuran, yaşları 15–27 arasında değişen 12 kız ve 4 erkek olmak üzere, dişeti büyümesi olan toplam 16 genç hasta seçilmiştir. Hastaların yaş ortalaması 18,125 olarak tespit edilmiştir. Hasta seçimi yapılırken en az bir çenesinde çift taraflı dişeti büyümesi olan genç bireyler tercih edilmiştir. Dişeti büyümesi olan hastalar seçilirken sistemik açıdan sağlıklı, sigara içmeyen, son altı ayda da herhangi bir ilacı düzenli olarak kullanmamış bireyler tercih edilmiştir. Çalışmamızda dişetin aynı bölgesinden 3 gün ara ile arka arkaya biyopsi alınabilmesine imkan sağlayacak yeterli doku kalınlığına sahip dişeti büyümesi olan hastalar tercih edilmiştir. Hastalara çalışmanın amacı ve uygulanacak işlemler detaylı bir biçimde anlatılıp, yazılı bilgilendirme formu okutulmuş, sözlü ve yazılı onamları alınmıştır.

Bütün bireylerin periodontal durumlarının belirlenmesinde, plak indeksi (PI), gingival indeks (GI), sondlamada kanama (SK), sondlanabilir cep derinliği (SCD) ve klinik ataşman düzeyi (KAD) ölçüm değerleri kişisel formlara kaydedilmiştir. SCD ve KAD ölçümleri Williams Periodontal Sondu (Williams probe, Hu-Friedy, CHICAGO, IL) kullanılarak yapılmıştır. Ölçümler sırasında sondun minimum basınçla uygulanıp, dişlerin uzun eksenine paralel tutulmasına özen gösterilmiştir. Ölçümler dişlerin hem bukkalinde hem de palatinalinde mezial, distal ve mid olmak üzere 6 noktada yapılmıştır.

3.1.1. PI ölçüm kriterleri

0: Plak yok

1: Serbest dişeti kenarı ve komşu diş yüzeyinde film tabakası şeklinde, sadece sond ile sıyrıldığında belirlenen plak varlığı,

2: Dişin gingival marjininin üst kısmında inceden orta kalınlığa, çıplak gözle izlenebilen plak varlığı,

3: Plak miktarının fazla ve kalınlığının dişeti oluşunu doldurduğu, dişin servikalinden koroneline doğru yarıdan fazla kısmında gözle izlenebilen plak varlığı

3.1.2. GI ölçüm kriterleri

0: Sağlıklı dişeti

1: Hafif iltihap, hafif renk değişikliği, hafif ödem varlığı, kanama olmaması

2: Orta seviyede iltihap, dişetin parlak, kırmızı olması ve kanama varlığı

3: Şiddetli iltihap, belirgin kırmızılık ve ödem ile spontan kanama varlığı

3.1.3. SK ölçüm kriterleri

Dişetlerindeki kanama Ainoma ve Bay'ın¹⁷² Gingival Bleeding Index (GBI) kriterleri temel alınarak incelenmiştir. GBI' de kanama 10 saniye içinde izlenirse (+), izlenmezse (-) olarak değerlendirilip, kanama gösteren dişlerin tüm dişlere ve ilgili bölgeye olan oranları yüzde olarak ifade edilmiştir.

İndeks ölçümlerinden sonra oral hijyen eğitimi ilk seansta sözlü ve uygulamalı olarak anlatılmış, sonraki ilk seansta hastanın uygulamaları kontrol edilerek uyarılarda bulunulmuştur. İlk seansta oral hijyen eğitimi takiben supragingival ve subgingival diştaşları temizlenip, politür işlemi uygulanmıştır. Birer hafta arayla en az iki seans kontrol randevularına hastalar çağrılıp gerekli bölgelerde subgingival diştaşı temizliği tekrarlanmıştır. Kontrol grubunu 1. gün biyopsileri oluşturmuştur. Dördüncü günde alınan 2. biyopsilerden elektrocerrahi yarasını içeren Koter grubunu, insizyon yarasını içeren biyopsi örneği ise İnsizyon grubunu oluşturmuştur. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurul' un 14.06.2006 tarihinde almış olduğu 168 sayılı kararı ile etik kurul raporu alınmıştır. Uygulanan tedavi programı aşağıdaki tabloda belirtilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Tedavi Planı

Faz I	Cerrahi 1. Gün	Cerrahi 4. Gün
İndeks Oral Hijyen Eğitimi Diş Yüzeyi Temizliği Kök Yüzeyi Düzleştirilmesi	İndeks 1. Biyopsi Yara Yüzeyi Oluşturulması	2. Biyopsi Gingivektomi Gingivoplasti

3.2. Biyopsi Tekniği

Dişeti biyopsileri, ilgili bölgenin lokal anestezi ile blokajı sağlandıktan sonra alınmıştır. İlk gün biyopsisi planlanan gingivektomi işleminden 3 gün önce dişeti büyümesi olan interdental papil bölgesinden

bisturi ile alınmıştır. Hastalarda bisturi ile alınan doku sonucu bir yara yüzeyi oluşturulmuşken aynı seansta dişeti büyümesi olan karşit segmentte elektro cerrahi işlemi de uygulanmıştır. Bu işlem dişetini soyar tarzda tek bir hareketle ve en fazla 1 sn uygulanarak yaklaşık 2 mm² lik bir yara yüzeyi oluşturacak şekilde uygulanmıştır. Bisturi ile oluşturulan yaralarda 15 nolu bisturi ucu, elektro cerrahi işlemlerinde ise küçük lup uç kullanılmıştır. Elektrocerrahi işlemlerinde Mikro Medikal Elektronik firmasına ait Elektro Dental Ünit cihazı kullanılmıştır.

Bu işlemlerden 3 gün sonra planlanan gingivektomi işlemi yapılmadan hemen önce yara yüzeyinin etrafından sağlam doku ve yara yüzeylerinin altından da bağ dokuyu alabilecek tarzda ancak kemiği açığa çıkartmadan 15 nolu bisturi ile ikinci biyopsiler alınmıştır. Elde edilen tüm dokular ependorf tüpleri içerisinde %10'luk tamponlanmış formalin içerisinde immünohistokimyasal analiz için patoloji laboratuvarına taşınmıştır.

Laboratuar ortamında, %10'luk tamponlanmış formalin solüsyonunda 24–72 saat fikse edildikten sonra rutin doku takip prosedürünü takiben parafin bloklara gömülmüştür. Dokulardan, adheziv lamlara (Surgipath, X-tra Adhesive Microslides, Illinois, USA) 4µm kalınlığında bir adet hemotoksilen-eozin boyaması için olmak üzere toplam 2 adet, yaklaşık 4 µm kalınlığında kesitler alınmıştır.

Histopatolojik inceleme için rutin hemaotoksilen-eozin boyanacak kesitler, 65°C'de etüv içinde deparafinize edilip, sırasıyla 30'ar dakika ksilol ve alkolde bekletildikten sonra çeşme suyunda yıkayıp boyama işlemine tabi tutulmuştur.

3.3. İmmünohistokimyasal Yöntem

Boyanma iNOS antikoruna için Avidin-Biyotin Kompleks (ABC) metodu ile immünohistokimyasal olarak yapılmıştır. Kesitler etüv içerisinde 56°C'de 12 saat bekletildikten sonra 1 saat süreyle ksilol ile muamele edilerek deparafinizasyon, yirmişer dakika süreyle sırasıyla %100, %96 ve %90'lık etil alkolde bekletilerek dehidratasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Kesitler 1 dakika çeşme suyunda yıkandıktan sonra distile sudan geçirilmiştir. Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için distile su içinde hazırlanmış % 3' lük hidrojen peroksit (H₂O₂) 10 dakika süreyle uygulanmıştır. Kesitler fosfatla tamponlanmış serum (PBS, Fosfat Buffer Solüsyonu, pH:7,60) ile püskürtme yöntemi kullanılarak iyice yıkanmıştır.

Formalin fiksasyonu ve parafin bloklama nedeniyle dokuda maskelenmiş olan antijenik yapıları açığa çıkarabilmek için, her üç antikorun da uygulanacağı kesitler antijen retrieval solüsyonu (0,01M sodyum sitrat buffer, pH:6,00) içerisinde ilk 10 dakika orta, son 5 dakika yüksek derecede olmak üzere toplam 15 dakika mikrodalga fırında işleminden geçirilmiştir. Takiben kesitler oda ısısında 30 dakika bekletilip, distile su ve arkasından PBS ile üç kez yıkanmıştır.

iNOS boyaması için Zymed Histostain Plus Broad Spectrum (Lot 1385070, Zymed laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA) kullanılmıştır. Kesitler 5–10 dakika süreyle non-immün bloklama serumunda bekletilip, sonrasında iNOSIL1-β (iNOS Ab-1 rabbit polyclonal antibody, Lot: 1605R406A NeoMarkers Fremont, CA, U.S.A) primer antikorlarıyla +4°C' de 18-20 saat süreyle muamele edilmiştir. Oda ısısına erişen kesitler PBS ile 5 dakika püskürtme yöntemi ile yıkanıp kurulandıktan sonra biyotine

bağlanmış bağlayıcı (sekonder) antikor 20–30 dakika uygulanmıştır. Kesitler yeniden PBS ile yıkanıp kurulandıktan sonra streptavidin ile konjuge alkalen fosfataz uygulanarak 20–30 dakika bekletilmiştir. Takiben kesitler PBS ile yıkanmış ve kurulanmıştır.

Renk vererek görüntülemeyi sağlamak amacıyla yaklaşık 5–8 dakika süre ile 3–3' diaminobenzidine tetrachloride solüsyonu (DAB, substarate kit, Lot: 11067520, Zymed S.San Francisco, California, USA) ile inkübe edilmiştir. Kesitler üç kez distile sudan geçirilmiş, zemin boyaması için Harris hematoksilende 5 saniye bekletilmiştir. Kesitler önce çeşme suyunda ardından distile suda yıkandıktan sonra 5 dakika % 96 alkolde fiske edilmişlerdir. Ksilol içinde 5 dakika bekletilmiş kesitlere entellan (Clearmount, Lot:10364117, Zymed S.San Francisco, California, USA) uygulanarak üzerleri kapatılmıştır.

3.4. Enflamasyonun Değerlendirilmesi

Pozitif kontrol olarak yoğun enflamasyon içeriği bilinen enflamatuar odontojenik kist dokusu kullanılmıştır. Primer antikor uygulanması aşamasında PBS içerisinde bekletilen enflamatuar odontojenik kist dokusu negatif kontrol olarak kabul edilmiştir.

Vakalara ait tüm histopatolojik değerlendirmeler Olympus BX-51TF (Olympus Corporation, JAPAN) ışık mikroskopunda yapılmıştır. Bukkal mukozaya ait örneklerin hematoksilen eozin boyalı kesitlerinde, epiteldeki akantoz ve rete proliferasyonu, bağ dokusunun selüleritesi,

damarlanma miktarı ve enflamatuar hücre infiltrasyon yoğunluğu değerlendirilmiştir.

Enflamasyon yoğunluğunun değerlendirilmesi x400 (bir büyük büyütme alanı) büyütmede bağ dokusunda yer alan enflamatuar hücrelerin sayılması ile gerçekleştirilmiştir. Hematoksilen-eozin kesitlerde rastgele seçilen beş büyük büyütme alanındaki inflamatuvar hücreler sayılmış ve inflamasyon yoğunluğu dört dereceli bir sistem ile skorlanmıştır:¹⁷¹

- 0: Enflamasyon yok
- 1: Alan başına 15 enflamatuar hücreden az
- 2: Alan başına 15–50 enflamatuar hücre
- 3: Alan başına 50 veya daha fazla enflamatuar hücre.

3.5. İmmünohistokimya Boyanmanın Değerlendirilmesi

Tüm antikolar ile boyanan kesitlerde kırmızı renkteki stoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edilmiştir. Her üç antikor için de mukoza epitelinde ve vasküler yapılarıdaki boyanma yoğunluğu üç aşamalı skalaya göre değerlendirilmiştir:

- 0: Boyanma yok
- 1: Zayıf boyanma (tek pozitif)
- 2: Kuvvetli boyanma (çift pozitif)

İnflamatuar hücrelerdeki ekspresyon yoğunluğu ise, rastgele seçilen üç büyük büyütme alanındaki pozitif inflamatuvar hücrelerin, toplam hücrelere olan oranı şeklinde değerlendirilmiştir.

3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler ortanca (25–75) persentil olarak gösterilmiştir. Zamana göre enflamasyon, iNOS pozitifliği ve iNOS boyama skor ortancaları arasında istatistiksel olarak önemli değişimin meydana gelip gelmediği Friedman testi ile araştırılmıştır. Friedman test istatistiği sonucunun önemli bulunduğu durumlarda anlamlı farka neden olan ölçüm zamanlarını tespit etmek amacıyla Wilcoxon İşaret testi ile çoklu karşılaştırmalar yapılmıştır. Tedavi öncesine göre Faz 1 tedavi sonrasında plak indeks, gingival indeks, cep derinliği ve sondalamada kanama düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişimin meydana gelip gelmediği ise Bağımlı (Paired) t testi ile araştırılmıştır. Sonuçlar $p < 0.05$ için istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışma grubundaki 17 hastanın sadece 1 tanesi çalışmayı yarıda bırakmıştır. Diğer tüm denekler tam uyumla çalışmalara katılmışlardır. Yapılan ilk muayeneler sonrasında verilen oral hijyen eğitim (OHE) ve uygulanan supragingival diştaşı temizliği ile kök yüzeyi düzeltmesi (Scaling and root planning = SRP) işlemleri (Faz 1 tedavi) sonrasında deneklerin dişeti sağlıkları cerrahi fazına geçebilmek için uygun seviyeye ulaşmıştır (Resim 1). Klinik plak seviyelerinde ve enflamasyon belirtilerinde gözle görölür azalma gözlenmiştir (Tablo 2).



Resim 1: Faz 1 tedavi sonrası klinik görünüm

Tablo 2: Faz 1 tedavi öncesi ve sonrası kaydedilen klinik veriler

	P. I. Ortalamaları		G. I. Ortalamaları		C. D. Ortalamaları		S. K. Ortalamaları	
	T.Ö.	Faz 1 T. S.	T.Ö.	Faz 1 T. S.	T.Ö.	Faz 1 T. S.	T.Ö.	Faz 1 T. S.
1	0,6190	0,1250	0,7619	0,3392	2,4583	2,0416	0,1309	0,0476
2	1,1987	0,4423	1,2756	0,2628	2,0250	1,5769	0,5064	0,1089
3	0,5416	0,2797	1,0059	0,6726	2,3869	1,6011	0,2857	0,0773
4	0,3690	0,1666	0,5833	0,3809	1,3154	1,2738	0,2440	0,0476
5	0,9940	0,2440	0,9642	0,3095	2,0357	1,5119	0,5654	0,0773
6	0,4940	0,0952	0,9404	0,3154	2,3988	1,5119	0,2202	0,0476
7	0,7121	0,1818	1,0151	0,3484	2,6590	1,8484	0,3863	0,0833
8	0,2986	0,1319	0,9444	0,2361	1,4097	1,2083	0,1180	0,0347
9	0,8511	0,3392	0,9940	0,3452	1,5000	1,2023	0,2440	0,0595
10	1,0357	0,2976	0,7738	0,2976	1,5357	1,2321	0,2440	0,0357
11	1,1130	0,4226	1,1488	0,3750	1,6845	1,3690	0,4583	0,0773
12	1,2857	0,3392	0,9404	0,3035	1,5892	1,3273	0,2261	0,0476
13	0,8846	0,1538	0,9743	0,2628	1,9358	1,5128	0,5000	0,0769
14	0,2797	0,1191	0,3988	0,1011	1,2500	1,1130	0,1607	0,0178
15	0,7976	0,4226	0,7321	0,3035	2,3988	1,9404	0,1726	0,0476
16	0,4066	0,0733	0,5533	0,1533	1,8066	1,3266	0,2000	0,0266

Hastaların tedavi öncesi ile faz 1 tedavi sonrasındaki plak indeks, gingival indeks, cep derinliği ve sondalamada kanama değerleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı azalma meydana geldiği saptanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3: Klinik Parametrelerin Faz 1 Tedavi Sonrası Değişimi

Değişkenler	Tedavi Öncesi	Faz 1 Ted. Sonrası	p^a
<i>Plak İndeks</i>	0.7±0.33	0.2±0.13	<0.001
<i>Gingival İndeks</i>	0.9±0.23	0.3±0.12	<0.001
<i>Cep Derinliği</i>	1.9±0.46	1.5±0.28	<0.001
<i>Sondlamada Kanama</i>	0.3±0.14	0.1±0.02	<0.001

a Bağımlı (Paired) t testi.

Cerrahi işlemler sonrasında hastaların belirgin ağrı şikayetlerinin olmadığı, çoğunun ağrı kesici alma ihtiyacı duymadığı, ağrı kesici alan 4 hastanın ise ağrı şikayetlerinin kayda değer oranda olmadığı, tespit edilmiştir. Cerrahi işlemler sonrası hastanın hekime geri döneceği tarzda herhangi bir kanama komplikasyonu gözlemlenmemiştir.

Birinci gün cerrahisinden sonra hastaların ikinci cerrahi için 3 gün sonra geldiklerinde yara iyileşmeleri klinik olarak incelenmiş, bisturi ile oluşturulan yara yüzeyinin hemen hemen kapanıp gözden kaybolduğu ancak elektro cerrahi uygulaması yapılan bölgenin oldukça enflame ve belirgin yara yüzeyi görüntüsüne sahip olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, hem insizyon hem de koter sahasındaki yara yüzeylerinin yüzeysel epitelizasyonlarının tamamlandığı saptanmıştır (Resim 2 ve 3).



Resim 2: 1. Gün oluşturulan farklı yara yüzeyleri; **İnsizyon ile oluşturulan yara yüzeyi (Siyah Ok)**, **Elektro cerrahi ile oluşturulan yara yüzeyi (Beyaz Ok)**



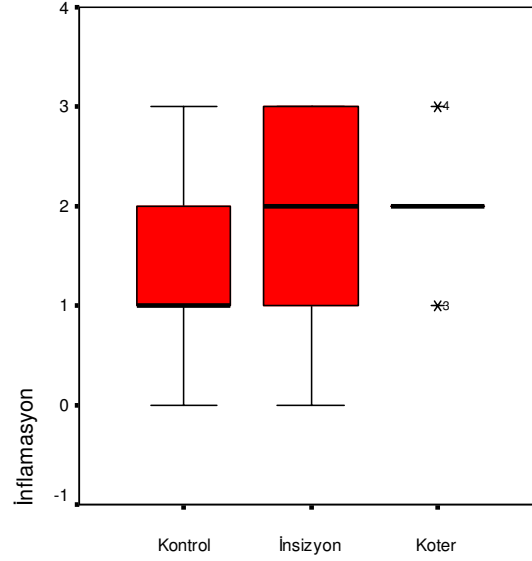
Resim 3: İlk gün oluşturulan yara yüzeylerinin 3 gün sonraki klinik görüntüsü; **İnsizyon ile oluşturulan yara yüzeyinin iyileşme görüntüsü (Siyah Ok)**, **Elektro cerrahi ile oluşturulan yara yüzeyinin iyileşme görüntüsü (Beyaz Ok)**

Hastalardan alınan biyopsiler immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, kontrol ve deney gruplarındaki enflamasyon, iNOS pozitifliği ve iNOS boyanma verileri aşağıdaki tabloda görüldüğü kaydedilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4: Enflamasyon, iNOS Pozitifliği ve iNOS Boyama Skorlarının; Kontrol, İnsizyon ve Koter Gruplarına Göre Dağılımı

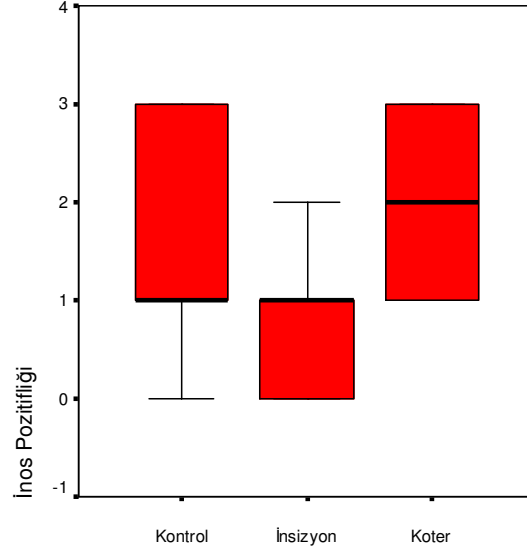
Değişkenler	Kontrol	İnsizyon	Koter
Enflamasyon			
<i>Enflamasyon Yok (0)</i>	1 (%7.14)	1 (%7.14)	-
<i>Hafif Enflamasyon (1)</i>	7 (%50.00)	4 (%28.57)	1 (%7.14)
<i>Orta Derece Enflamasyon (2)</i>	3 (%21.43)	5 (%35.71)	12 (85.72)
<i>Yoğun Enflamasyon (3)</i>	3 (%21.43)	4 (%28.57)	1 (%7.14)
iNOS Pozitifliği			
<i>Boyanma Yok (0)</i>	2 (%14.29)	6 (%42.86)	-
<i>%20' sinden Azı Pozitif (1)</i>	6 (%42.86)	5 (%35.71)	4 (%28.57)
<i>%20–50 Arası Pozitif (2)</i>	2 (%14.29)	1 (%7.14)	6 (%42.86)
<i>%50'sinden Fazlası Pozitif (3)</i>	4 (%28.57)	2 (%14.29)	4 (%28.57)
iNOS Boyaması			
<i>Negatif (0)</i>	2 (%14.29)	6 (%42.86)	-
<i>Zayıf (1)</i>	8 (%57.14)	6 (%42.86)	5 (%35.71)
<i>Güçlü (2)</i>	4 (%28.57)	2 (%14.29)	9 (%64.29)

Enflamasyon skorunun zamana göre istatistiksel olarak anlamlı değişim göstermediği gözlenmiştir ($p=0.478$) (Grafik 1, Tablo 5).



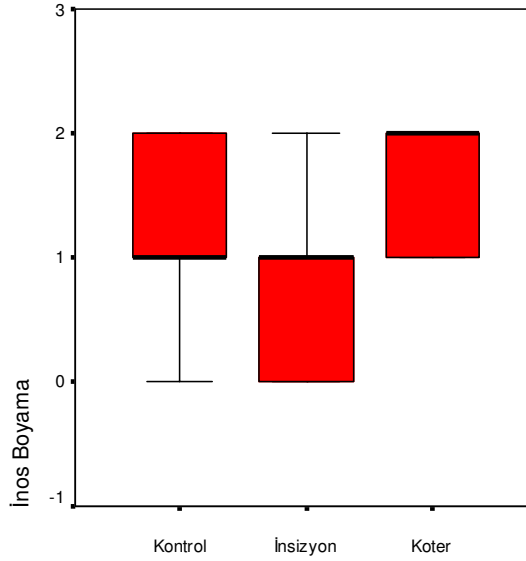
Grafik 1: Kontrol, İnsizyon ve Koter Gruplarına Göre Enflamasyon Skor Ortancaları ve 25.-75. Persentil Değerleri

iNOS pozitifliği skorunun ise zaman içerisinde istatistiksel olarak anlamlı değişim gösterdiği belirlenmiştir ($p=0.030$) (Tablo 5). Kontrol ile İnsizyon arasında ve Kontrol ile Koter arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmazken ($p=0.098$ ve $p=0.141$), Koter'in İnsizyon grubuna göre iNOS pozitifliği skorunun istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p=0.020$) (Grafik 2).



Grafik 2: Kontrol, İnsizyon ve Koter Gruplarına Göre iNOS Pozitifliği Skor Ortancaları ve 25.-75. Persentil Değerleri

iNOS boyama skorunun da zaman içerisinde istatistiksel olarak anlamlı değişim gösterdiği saptanmıştır ($p=0.006$). Kontrol ile İnsizyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmazken ($p=0.083$), Kontrol ve İnsizyona göre Koter'in iNOS boyama skoru istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olarak kaydedilmiştir ($p=0.035$ ve $p=0.008$) (Grafik 3, Tablo 5).



Grafik 3: Kontrol, İnsizyon ve Koter Gruplarına Göre iNOS Boyanma Skor Ortancaları ve 25.-75. Persentil Değerleri

Tablo 5: Kontrol, İnsizyon ve Koter Gruplarına Göre Enflamasyon, iNOS Pozitifliği ve iNOS Boyanma Skor Ortancaları ve 25.-75. Persentil Değerleri

Değişkenler	Kontrol	İnsizyon	Koter	p ^a
Enflamasyon	1 (1-2)	2 (1-3)	2 (2-2)	0.478
iNOS Pozitifliği	1 (1-3)	1 (0-1) ^b	2 (1-3) ^b	0.030
iNOS Boyaması	1 (1-2) ^c	1 (0-1) ^d	2 (1-2) ^{c,d}	0.006

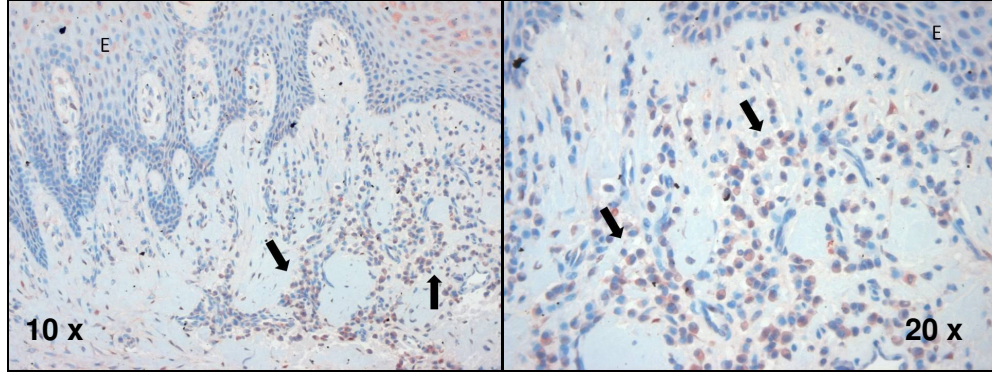
a Friedman testi.

b İnsizyon ile Koter arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0.020).

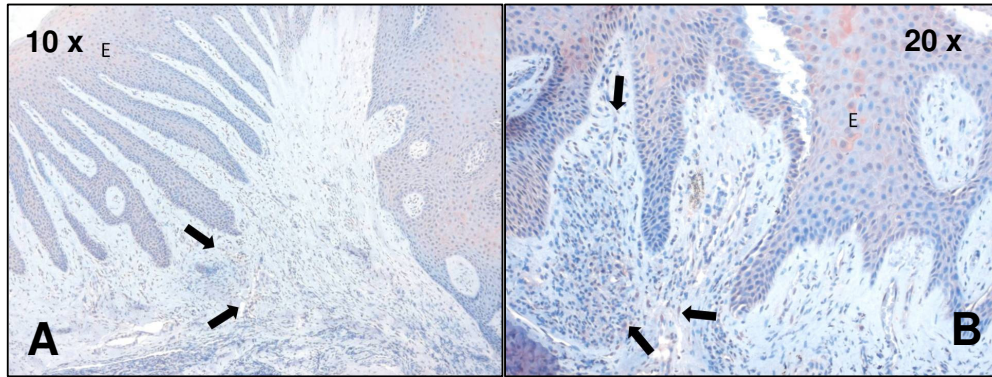
c Koter ile Kontrol arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0.035).

d Koter ile İnsizyon arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0.008).

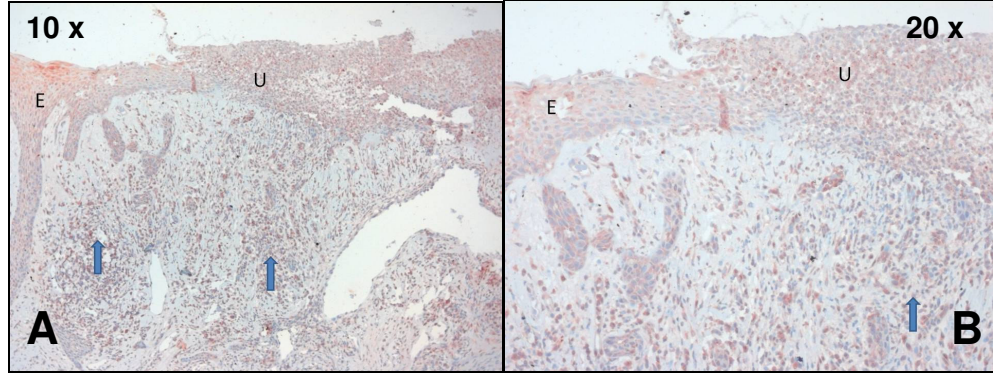
Alınan doku biyopsilerinin kontrol ve deney grubuna ait olan farklı büyütmelelerdeki mikroskopik görüntü örnekleri aşağıdaki resimlerle sunulmuştur (Resim 4,5,6 ve 7).



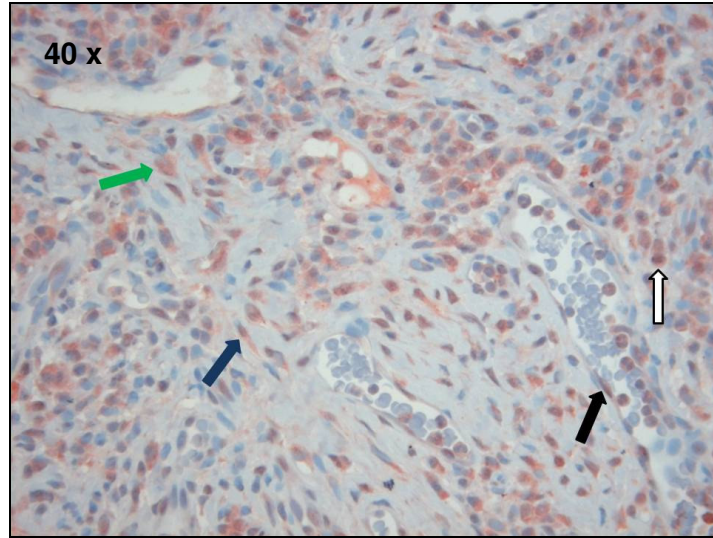
Resim 4: Kontrol grubuna ait biyopsi görüntüleri; Epitel altında bağ dokusunda fibroblastlar ve yer yer yoğun mononükleer enflamatuar hücre infiltrasyonu (bkz. oklar) iNOS pozitifliği sergilemektedir.



Resim 5: İnsizyon grubuna ait biyopsi görüntüleri; A. Matür epitel altında bağ dokusunda hafif düzeyde zayıf iNOS pozitifliği sergileyen monoükleer enflamasyon görülmektedir (oklar), iNOS poliklonal antikoruna (AEC) x100. B. Bağ doku içerisindeki monoükleer enflamatuar infiltratta ve fibroblastlarda zayıf iNOS pozitifliği görülmektedir (oklar). iNOS poliklonal antikoruna (AEC) x200.



Resim 6: Koter grubuna ait biyopsi görüntüleri; **A.** Sağlam epitel ve komşu ülser alanı altında yoğun ve güçlü iNOS boyanması gösteren mononükleer enflamatuar hücre infiltrasyonu izlenmektedir (oklar), iNOS poliklonal antikoru (AEC) x100. **B.** Epitel komşuluğundaki ülser alanı içerisinde iNOS pozitif nötrofiller izlenmektedir. Altaki bağ dokusunda kuvvetli iNOS pozitif fibroblastlar ve mononükleer enflamatuar hücreler görülmektedir (ok). iNOS poliklonal antikoru (AEC) x200.



Resim 7: Doku biyopsilerinde tespit edilen hücre çeşitleri; Bağ doku içerisinde kuvvetli iNOS pozitifliği gösteren fibroblastlar (mavi ok), makrofajlar (yeşil ok), damar dışına çıkmış nötrofiller (beyaz ok) ve endotel hücreleri (siyah ok) izlenmektedir. iNOS poliklonal antikoru (AEC) x400.

5. TARTIŞMA

1965 yılında L e ve arkadaşlarının yaptıkları klasik çalışmayla plak akümülasyonu ile deneysel gingivitis oluşunu arasında direkt ilişki olduğunu rapor etmişlerdir. ⁴⁸ Periodontal hastalığın genel tanımı dişin etrafında bakteri veya plak birikimine karşı oluşan dişeti ve bağ dokusunun enflamatuar cevabı olarak kabul g rmuşt r. ¹⁷³

Gingival hiperplaziler estetik olmayan görünüme neden olmalarından ziyade periodontopatojenler için uygun yeni yerleşim alanları oluşturan ve hem hasta hem de klinisyen için ciddi bir problem teşkil eden periodontal hastalıklar olarak açıklanmıştır. ^{36,58}

Klinik olarak tespit edilebilen fibrotik dişeti büyümelerinin bir çok farklı etkene bağlı olduğu belirtilmiş ancak; dişeti büyümesine ve dişeti büyümesinin şiddetlenmesine asıl neden olan etkenin lokal bakteri plağı olduğu öne sürülmüştür. ¹ Ayrıca dişeti büyümesinin oluşumunda enflamasyonun hazırlayıcı rolü olduğu bildirilmiştir. ²

Bazı araştırmacılar dişeti büyümesinin enflamasyona bağlı olan ve olmayan olmak üzere iki ana nedeni olduğunu belirtmişlerdir. Enflamasyona bağlı olmayan mekanizmaların defektif kollajenaz aktivitesini, ¹⁷⁵ aldosteron sentez blokajını ¹⁷⁶ ve kerotinosit büyüme faktörünün regulyasyon artışını ¹⁷⁷ içerdiğini açıklamışlardır. Enflamasyona bağlı olan mekanizmada ise, enflamasyonun dişeti cep sıvısı içindeki ilacın konsantrasyonunun oluşturacağı direkt toksik etkiye ve/veya bakteri plağına bağlı olarak gelişebileceğini rapor etmişlerdir. ¹⁷⁸

Hamilelik döneminde hormonal değişimle ilişkili olarak gelişen dişeti büyümelerinin histopatolojisinde farklı seviyelerde tespit edilen ödem ve kronik enflamasyona ilave olarak bağ dokusunun merkezinde yoğunluk ve yeni oluşmuş kapillerle karakterize olduğu açıklanmıştır. İlaça bağlı büyümelerde ve özellikle siklosporinlere bağlı gelişenlerinde yeni oluşan kapillerin etrafında kronik enflamatuvar hücreler ile bir kısım plazma hücreleri tespit edilmiştir.¹⁷⁹ Ayrıca fenitoine bağlı gelişen dişeti büyümelerinde de anormal şekilde artmış fibroblastik proliferasyonun yanında bu alanlarda enflamasyon tespit edilmiştir.¹⁸⁰

Kronik enflamasyona bağlı oluşan dişeti büyümesinde ise kronik enflamasyonun eksudatif ve proliferatif nitelikleri gösterilmiştir. Ayrıca dejeneratif değişiklikler, yeni kapillerin oluşumu ve daha yoğun enflamasyon hücre varlığı saptanmıştır. Puberta döneminde oluşan kronik enflamasyona bağlı dişeti büyümeleri mikroskopik olarak incelendiğinde belirgin ödem ve dejeneratif değişiklikler gözlemlendiği bildirilmiştir.⁴⁸

Çocuklarda enflame dişeti bölgelerinin ortalama sayısı ile oral hijyen seviyeleri karşılaştırıldığında enflamasyon oluşumu ile oral hijyen faktörleri arasında bir ilişki olmadığı bir başka çalışma ile ortaya konmuştur.⁴³

Amerikan Periodontoloji Derneği'nin¹⁸⁰ faz 1 tedavinin başarı parametreleri arasında yer aldığını açıkladığı, hastanın plak kontrolünü sağlayabilmesi maddesine uygun olarak, bizim çalışmamızda faz 1 tedavi öncesi ve sonrasında PI skorlarında istatistiksel olarak azalma kaydedilmiştir. Plak kontrolünün sağlanması ile GI, CD ve SK değerlerinde de istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edilmiştir.

Çalışmamızda faz 1 tedavi öncesi ile sonrası kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın ortaya çıktığı ve Cobb'un belirttiği faz 1 tedavi sonrası sonuçlarla paralellik izlediği saptanmıştır (Tablo 3).¹⁸¹

Dişeti büyümeleri sonucu oluşan supraalveolar ceplerin tedavisinde uygulanan gingivektomi işlemi sonrası oluşan yara yüzeyinin iyileşmesinin sekonder yara iyileşmesi olduğu, yaralanma sonrası vücudun bütünlüğünü koruyabilmek için yara iyileşmesinin de esas olduğu rapor edilmiştir.^{10,11}

Bazı araştırmacılar geleneksel periodontal cerrahi ile elektro cerrahi yöntemleri arasında dişeti iyileşmesinin anlamlı bir fark göstermediğini bildirmişlerdir.^{182,183} Başka araştırmacılar ise, elektro cerrahi sonrasında iyileşmede gecikme, dişeti yüksekliğinde önemli derecede azalma ve daha fazla kemik yaralanması olduğunu rapor etmişlerdir.⁵⁸ Geleneksel periodontal cerrahiyle ya da elektro cerrahiyle yapılan yüzeysel dişeti rezeksiyonlarının iyileşmesinde az bir fark olduğu sonuç olarak tespit edilmişse de,⁵⁶ derin rezeksiyon işlemlerinde kemiğe yakın seviyelerde elektro cerrahi işleminin uygulanması ile, konvansiyonel periodontal tedavi ile ortaya çıkmayacak; dişeti çekilmesi, kemik nekrozu ve sekestri, kemik yüksekliğinin azalması, furkasyonun açığa çıkması ve dişin mobilite kazanması gibi komplikasyonların oluşumuna sebep olunabileceği vurgulanmıştır.^{52,57-60} Bu sonuçlar ışığında, elektro cerrahi uygulamalarının yüzeysel prosedürler ile sınırlandırılması gerekliliği önem kazanmıştır.⁵³

Bizim çalışmamızda elektro cerrahi yüzeysel olarak uygulanmıştır. Hiçbir hastamızda dişeti çekilmesi, dişin mobilite kazanması, kemik nekrozu ve sekestr oluşumu gibi komplikasyonlar gözlenmemiştir. Bununla birlikte, alınan biyopsilerin iNOS pozitifliği immünohistokimyasal olarak incelendiğinde, elektro cerrahi grubunda insizyon grubuna nazaran istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir (Grafik 2, Tablo 5). Koter grubundaki yara iyileşmesindeki gecikmenin bir nedeninin de artmış iNOS seviyesi olabileceği düşünüldü.

Konvansiyonel periodontal cerrahi ve elektro cerrahi ile yapılan gingivektomi işlemleri sonrasında ağrı oluşumu değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın bulunmadığı rapor edilmiştir. ⁸ Bizim çalışmamızda da hastaların operasyon sonrasında kayda değer ağrı şikayetleri olmamıştır.

Makrofajların doku defansında, enflamasyonda ve immünitede rol oynayan ve vücudun hemen hemen bütün dokularında bulunan çok yönlü hücreler olduğu belirtilmiştir. ¹⁸⁴

Önceleri toksik bir molekül olarak adlandırılan, ¹⁶⁹ daha sonra geçen zamanla moleküler, hücresel ve fizyolojik olaylarda rol oynadığı tespit edilen, kısa ömürlü, serbest radikal özelliğine sahip NO'nun ^{10-13,19,107-110,116,118} çeşitli tipteki yaraların iyileşmesinde önemli bir role sahip olabileceği bildirilmiştir. ¹⁹ Hem insan hem de hayvan çalışmalarından elde edilen veriler ışığında NO'nun yara iyileşmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. ¹²

NO'nun çok çeşitli dokularda önemli bir moleküler sinyal olarak davrandığı, ayrıca nonspesifik immün cevabın sitotoksik mediatörü olarak önemli bir rol oynadığı ve dokuların genel patofizyolojisinde hem zararlı hem de yararlı etkilerden sorumlu olduğu kabul edilmiştir. ¹⁸⁵⁻¹⁸⁷

Genelde enflamatuar cevabın başlangıcının iNOS'un regülasyonunda kısa süreli ve geçici bir artış oluşmasıyla yüksek NO seviyelerinin üretilmesi olduğu öne sürülmüştür. ⁵¹ iNOS'un aktive olup, yüksek miktarlarda ürettiği NO'nun konak savunma mekanizmasında ve immünitenin kontrolünde önemli olduğu bildirilmiştir. ⁹⁹

Proenflamatuar sitokinlerin uyarımı sonucu birçok memeli hücrelerinin iNOS salgıladıkları gösterilmiştir. ^{188,189} Ancak iNOS salımının ana kaynağının makrofajlar olduğu, bunun yanında endotel hücrelerinin de katkı sağladığı savunulmuştur. ⁹⁹ Artan NO üretimi, enflamatuar sitokinlerin ve diğer mediatörlerin farklı dokularda iNOS üretimini arttırdığı immün aktif halin bir yansıması olarak yorumlanmıştır. ¹⁹⁰

Enflamasyonun erken dönem cevabında iNOS aracılığıyla argininin yüksek verimlilikle NO'ya dönüştürülmesi ile karakterize olduğu duyurulmuştur. ¹⁰⁴ NO üretimi cNOS aracılığıyla düşük verimlilikle gerçekleştiğinde metal içeren proteinlerle veya serbest radikallerle etkileşim gibi NO'nun direkt etkisinin gözlemlendiği, ¹⁹¹ NO'nun yüksek verimlilikle üretilmesi durumunda ise reaktif nitrojen oksit türleri aracılığı ile indirekt etkisini göstermesinin beklendiği bildirilmiştir. ¹⁰⁴ Bu reaksiyonların küçük ölçüde normal fizyolojik durumlarda oluştuğu, iNOS ekspresyonu olan patolojik durumlarda yüksek reaktif nitrojen oksit türlerinin oluşması ile kimyasal stresin oluşabileceği bildirilmiştir. ¹⁹¹ Bununla birlikte, özellikle

patolojik durumlarda reaktif nitrojen oksit türleri aracılığı ile NO'nun indirekt etkilerin oluşma potansiyelinin oksidatif stres gelişimine de çoğunlukla katkıda bulunduğu belirtilmiştir.¹⁰⁴

Yüksek seviyelerdeki reaktif nitrojen oksit türlerinin lipid peroksidasyonuna, DNA yıkımına, tiyollerin oksidasyonuna ve tirozin kalıntılarının nitrasyonuna öncülük edebileceği¹⁹⁰ ve bu nedenlerle, yüksek miktarlardaki NO'nun memelilerin dokularında patojenlere karşı sitostatik ve sitotoksik antimikrobiyal aktivitesi ile koruyucu rol oynayabileceği bildirilmiştir.¹⁹²⁻¹⁹⁵ NO'nun birçok protein ve enzimin nitrozilasyonunu ve nitrasyonunu yapmasının yanı sıra sitotoksik ve bakterisidal etkilerini de arttırdığı rapor edilmiştir.¹⁰⁴

iNOS'un açığa çıkması ve artan mikroorganizmalara karşı sitotoksik bir molekül gibi davranabilen NO'nun yüksek miktarlarda üretilmesi enflamasyona karşı gelişen bir cevap olarak nitelendirilmiş ve bu durumun dokulara karşı oluşan zararlı ve faydalı etkilerle ilişkili olabileceği bildirilmiştir.¹⁰¹

NO'nun, platelet agregasyonunu engellemek, damarsal geçirgenliği sağlamak gibi belirlenebilen fizyolojik rollerinden, esas olarak cNOS tarafından üretilen NO'nun sorumlu olduğu, bunun yanında iNOS tarafından üretilen NO'nun ise enflamasyondan sorumlu olduğu gösterilmiştir. Nitekim periodontal hastalıkta verilerin iNOS varlığını gösterdiği ancak cNOS izoformlarının varlığını göstermediği belirtilmiştir.

Batista ve arkadaşları (2002) insan biyopsilerinin toplandığı laboratuvarlarında yaptıkları çalışmada; kontrol grubuna göre gingivitis ve lokal periodontitis grubuna dahil olan örneklerde milimetrekaredeki iNOS pozitif hücre sayısında anlamlı artış olduğunu tespit etmişlerdir. Polimorfonükleer hücrelerin ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında periodontal hastalık durumunda artış gösterdiğini bildirmişlerdir.¹⁰¹

Bazı araştırmacılar NO'nun periodontal hastalıkta önemli bir rolü olduğunu, ancak periodontopatojenlerin eliminasyonuna yardım edip etmediğinin veya doku yaralanmasına katkı sağlayıp sağlamadığının tam olarak bilinmediğini bildirmişlerdir.^{23,168,196-199}

Periodontitisli hastaların dişeti dokularında sağlıklı dokulara oranla iNOS salımının oldukça fazla olduğu tespit edilmiştir.⁹⁹ Özellikle Lappin ve arkadaşları ve Kendall ve arkadaşları 2000 yılında yaptıkları insan çalışmalarında kontrol gruplarına nazaran periodontitis örneklerinde iNOS salımının yüksek seviyelerde olduğunu göstermişlerdir.^{23,198}

Ancak NO sentezinin periodontal hastalıkta arttığı bilinmesine rağmen, dişeti dokusundaki üretim kaynağı hakkında bilginin çok az olduğu vurgulanmıştır.⁹⁹ Lappin ve arkadaşları (2000) periodontitisli hastalarda makrofajların ve endotelial hücrelerin NO ürettiğini ve periodontal hastalığın gelişimine katkı sağladığını öne sürmüşlerdir.²³ Bizim çalışmamızda da oluşturulan yara örnekleri incelendiğinde artan enflamasyonda yoğunlaşan makrofajların istatistiksel anlamlı iNOS pozitif boyandığı tespit edilmiştir. Her iki grupta da 3. gün biyopsilerin mikroskopisinde çeşitli seviyelerde enflamasyon ve buna bağlı enflamatuar hücre yoğunluğu gözlenmiştir. Özellikle makrofaj sayılarındaki

artış ve makrofajların iNOS pozitif boyanması Lappin DF ve arkadaşlarının (2000) yaptıkları çalışma ile paralellik arz etmiştir.

Mercado ve arkadaşları romatoid artrit ile periodontal hastalık arasında patobiyolojik benzerlikler olduğunu, romatoid artrit teşhisi konan bireylerde periodontal hastalığı belirleyen standart klinik ve laboratuvar parametrelere rastlandığını, orta veya şiddetli romatoid artriti olan bireylerde yine orta veya şiddetli periodontal hastalığın gözleendiğini ve bu ilişkinin enflamatuvar cevapta rol oynayan moleküler olayların altında yatan mekanizmayı gösterebileceğini bildirmişlerdir.¹⁰¹

Periodontal hastalık ve romatoid artrit dikkate değer bir benzerlik göstermektedirler; ancak romatoid artritdeki patolojinin başlangıcının periodontal hastalıklardaki gibi bakteri enfeksiyonu ile ilişkili olduğu düşünülmemektedir. Hem periodontal hastalık hem de romatoid artrit kronik enfeksiyondur ve birçok patofizyolojik belirtiyi paylaşmaktadırlar. Romatoid artrit de periodontal hastalıkta olduğu gibi enflamasyon bağ doku, kollagen ve ekstrasellüler matriksin azalmasıyla sonuçlanan sıvı birikiminin eşlik ettiği boşlukta lokalizedir.^{99,200}

Önemli bir proenflamatuvar mediator olan NO'nun romatoid hastalığının seyrine dahil olduğu, aşırı NO üretimi ile ispatlanmıştır.¹⁰⁰ Hem periodontal hastalığın hem de romatoid artritin aktif dönemlerinin T hücre, makrofaj, polimorfonükleer ve plazma hücrelerinin bulunduğu yaygın hücrel infiltrasyon ile karakterize olduğu bildirilmiştir.^{100,199} Bizim çalışmamızda da örneklerimizde benzer şekilde makrofajlar daha yoğun olmak üzere, polimorfonükleer hücreler ve plazma hücreleri tespit edilmiştir. Benzer şekilde insanlarda yapılan ve periapikal dokuların

immunohistolojik olarak incelendiği çalışmalar neticesinde iNOS'un epitel hücrelerinde, endotel hücrelerinde, makrofajlarda, fibroblastlarda ve polimorfonükleer lökositlerde oldukça yaygın olduğu belirlenmiştir.²⁰⁰

Başka bir çalışmada, kısa yarılanma ömrü nedeniyle, enflame dokudan fazla uzağa diffüze olamayan NO üreten hücrelerin belirlenmesinin önemli olduğu ve bu nedenle etkili bir enflamasyon mediatörü olarak tanımlanan NO'nun lokal olarak üretilmesi gerektiğinin altını çizmişlerdir.¹⁰⁰

Sitokinlerin uyardığı iNOS enzimi NO üretiminin artmasına sebep olarak, yüksek seviyeye ulaşan NO'nun superoksit ile birleşerek toksik bir ürün olan peroksinitrite dönüşmesine neden olmaktadır. Peroksinitrit ise biyolojik sistemler için potansiyel bir oksidan olan hidroksil radikaline ve nitrojen dioksite dönüşmektedir. Ancak yine de NO'nun immunopatolojik prosesteki rolü tam olarak bilinmemektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda NO'nun sitokin aktivitesi ile ilişkili enflamatuar durumlarda doku ve kemik yıkımına aracılık edebileceği düşünülmektedir.¹⁰⁰

Romatoid artrit için önemli bir proenflamatuar molekül olan NO; doku yaralanmaları (Romatoid artrit, osteoartrit, sistemik lupus eritematosus ve enflamatuar artrit) sonucu oluşan enflamasyon sırasında, sitokinler ve endotoksinler aracılığıyla indüklenen iNOS tarafından, yüksek miktarlarda üretilmektedir. Böyle durumlarda cNOS, hücreler arası iletişimin sağlanması için düşük miktarda (pikomolar) NO üretiminden sorumlu iken, iNOS ise yüksek miktarda mikrobisidal ve doku ve hücelere zarar veren (mikromolar) NO üretiminden sorumludur.¹⁰⁰

L-arginin'in L-sitrülin'e oksidasyonunu katalizleyerek, kalsiyumdan bağımsız bir reaksiyonla NO üreten bir enzim olarak tanımlanan iNOS' un, ²⁰¹⁻²⁰³ makrofajların bakterilere, virüslere, mantarlara, protozoalara ve tümör hücrelerine karşı gelişen sitostatik ve sitotoksik etkisinden sorumlu olması ve ^{98,185,204} muhtemel doku yıkımına neden olan konak savunması nedeniyle oldukça önemli olduğu bildirilmiştir. ¹⁸⁶

NO'nun, L-argininden L-sitruline dönüştürülürken, iNOS aracılığı ile ara ürün olarak oluşması nedeniyle, NO inhibitörü olarak L-arginin analogu olan L-N^G-monometil arginin (L-NMMA), L-arginin-metil ester (L-NAME) ve selektif iNOS inhibitörü olan mercaptoetilguanidin (MEG) kullanılabilineceği duyurulmuştur. ²⁰⁶

Ratlarda yapılan bir çalışma ile L-NMMA' nın artrit hastalığının aktivitesini synovial sıvıyı ve doku yıkımını azaltarak module ettiği gösterilmiştir. ²⁰⁶ Hayvanlarda yapılan birçok çalışma, seçici olmayan NOS inhibitörü kullanımıyla oluşan NO üretiminin durmasından ziyade, seçici iNOS inhibitörlerinin kullanılmasının daha yararlı sonuçlar verdiğini göstermektedir. ²⁰⁷⁻²⁰⁹

Yapılan bir hücre kültürü çalışmasında insan dişeti fibroblastlarının NO ile ilişkisi incelenmiş, farklı sitokin kombinasyonlarıyla uyarıldıktan 48 saat sonra ortamdaki NO miktarının değişimi saptanmış ve yaklaşık on kat artış neticesinde istatistiksel anlamlı bir sonuç ortaya çıkmıştır. Ayrıca inhibitörlerin ortamdaki etkileri incelendiğinde L-NMMA ve

selektif iNOS inhibitörü MEG' in etkili inhibisyonu belirlenmiş ve L-NAME' in enzimi etkili olarak inhibe etmediği ortaya konulmuştur.⁹⁹

Son yıllarda periodontal hastalıkların patofizyolojisindeki NO'nun rolünün incelendiği çalışmalar artmaktadır.⁹⁹ Matejka ve arkadaşları periodontal hastalığı olan hastaların dişeti dokularını sağlıklı kontrollerle karşılaştırdığında L-arginin ve L-sitrülin konsantrasyonlarının artmış olduğunu göstermişler, bunun da NO miktarını yükselttiğini belirtmişlerdir.¹⁶⁷ Bununla birlikte benzer şekilde iNOS enziminin de NO konsantrasyonunu artırıcı etkiye sahip olduğunu tespit etmişler ve bunun dişeti dokusunda iNOS inhibisyonu için kanıt olduğunu öne sürmüşlerdir.⁹⁹ Periodontal hastalığı olan rat modellerinde yapılan bir çalışmayla da; iNOS' un seçici inhibitörü olan MEG' in koruyucu etkisi gösterilmiş, bunun yanında deneysel olarak oluşturulan periodontal hastalıkta NO üretiminin arttığı ve MEG tedavisinin periodontal hastalıkla ilgili kemik yıkımına karşı koruma sağladığı bildirilmiştir.¹⁶⁸

Sitokin uyarımına bağlı NO üretiminin inhibisyonunda iNOS için seçici inhibitör olan MEG, cNOS'un izoformları olan eNOS veya nNOS için inhibitör etkiye sahip değildir. Sinerjistik etki gösteren sitokinlerin seviyelerinin fibroblastlar uyarıldıktan sonra 12. saatte pik seviyeye ulaşır 72. saatte başa döndüğü, NO üretiminin ise 24–72 saatler arasında gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında iNOS'un regülasyonunun artmasının ve gingival fibroblastlarda NO üretiminin artmasının periodontal hastalıklarda önemli bir rol oynayabileceği öne sürülmüştür.⁹⁹

NO gazının periodontal hastalıktaki varlığının hastalığın gelişiminden sorumlu kemik rezorbsiyonuna ilave bir mediatör olarak gösterilebileceği vurgulanmıştır.¹⁰¹

Kröncke ve arkadaşları (1997) ve Allaker ve arkadaşları (2001) NO'nun antimikrobiyal aktivite ve immün sistemi düzenleyici etki göstermesinin yararlı olabileceğini bildirmişlerdir.^{23,185} Diğer taraftan, birçok araştırmacı NO'nun alveolar kemiği de içeren komşu konak dokusuna sitotoksik etki göstermesinin zararlı olabileceğini rapor etmişlerdir.^{186,210,211}

Çalışmamızda iNOS pozitifliği ve iNOS boyanması incelendiğinde, insizyon grubunun kontrol grubuna nazaran zamana bağlı istatistiksel anlamlı artış göstermediği saptanmıştır (Grafik 2 ve 3, Tablo 5). iNOS pozitifliğinin kontrol ve insizyon grupları arasında farklılık göstermesi, ancak istatistiksel olarak anlamlılığın oluşmaması, NO seviyesindeki artışın az olduğu ve oluşan yara yüzeyinde NO'nun doğrudan etkisini göstererek, koruyucu ve düzenleyici rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bunun yanında, iNOS pozitifliğinin ve boyanmasının elektro cerrahi grubunda zamana bağlı olarak gösterdiği istatistiksel anlamlı artış (Grafik 2 ve 3, Tablo 5), NO'nun yara bölgesinde yoğun olarak bulunduğuna, bunun sonucunda dolaylı etkisi olan sitotoksik etkisini göstermiş olabileceğine ve yara iyileşmesindeki gecikmeden sorumlu olabileceğine işaret etmektedir.

Bazı araştırmacılar, yüksek konsantrasyonlardaki NO'nun osteoklastların oluşumunu ve rezorbe edici özelliklerini baskılaması sonucu kemik yıkımını inhibe ettiğini, ancak bunun yanında düşük

konsantrasyondaki NO'nun kemik rezorbsiyonuna ve normal osteoklast fonksiyonuna aracılık eden sitokinlerin etkisini güçlendirdiğini bildirmişlerdir.⁹⁸ Benzer şekilde yüksek konsantrasyondaki NO'nun osteoblastların büyümesini ve differansiye olmasını inhibe ettiği belirtilmiştir.⁹⁸ cNOS enzimi tarafından üretilen düşük miktarlardaki NO'nun ise tam tersine normal osteoblastların gelişimini ve fonksiyonunu regule edebileceği öne sürülmüştür.²¹²

Bazı çalışmalar NO varlığının alveoler kemik yıkımını arttırdığını açıklamış,^{168,210,212} bazı araştırmacılar ise periodontal hastalıkla ilişkili olan bakterilerin yaşamasına ve gelişimine etki edebileceğini^{23,185} veya fazla kemik yıkımını engelleyen, klastik aktiviteyi kontrol eden bir molekül olabileceğini rapor etmişlerdir.^{212,213} NO'nun klastik hücreler üzerine direkt etki ederek kemik metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir.²¹²⁻²¹⁵

Bununla birlikte mikroorganizmaların öldürülmesinde etkili olduğu düşünülen NO'nun artan seviyelerinin, oksidasyon ve nitrasyon reaksiyonlar, enzimatik inhibisyon, DNA yaralanması ve siklooksijenaz veya metalloproteinazın aktivitesi gibi çeşitli sitotoksik mekanizmalar aracılığıyla doku bozulmasına öncülük edebileceği bildirilmiştir.^{168,185,210,216}

Bazı araştırmacılar NO ve diğer serbest radikallerin nötrofillerin prokollajenaz aktivitesine katıldıklarını ve proteoglikanları ve kollajen sentezini baskıladıklarını belirtmişlerdir.^{217,218} Bu durumun da dişeti lezyonlarında NO'nun erken kollajen yıkımına neden olabileceği bildirilmiştir.²¹⁹ Ayrıca artan iNOS salımının fibroblastları inhibe edebileceği ve apoptozise neden olabileceği de öne sürülmüştür.²²⁰

Önceki yıllarda yapılan çalışmalarda steril hayvanların dişetinde iNOS aktivitesinin olmadığı tespit edilmesinden bu yana iNOS aktivitesine bakteri plağının sebep olabileceği belirtilmiştir.^{92,169} Çalışmamızda bireysel farklılıkları kaldırarak farklı enflamasyon alanlarının oluşturulması ve bunun neticesinde dokularda oluşan yara iyileşmesi sırasındaki iNOS pozitifliğinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bunun için split-mouth yöntemiyle 1. ve 3. gün biyopsileri alınmış ve mikroskopik olarak incelenmişlerdir. Sonuç olarak enflamasyonun gruplar arasında zamana bağlı istatistiksel anlamlı değişim göstermediği, ancak iNOS pozitifliğinin ve iNOS boyanmasının zamana bağlı istatistiksel anlamlı değişim gösterdiği saptanmıştır.

Çalışmamızda uyguladığımız oral hijyen eğitimi (OHE) ve faz 1 tedavisi ile bakteri plağının neden olduğu enflamasyonun en aza indirilmesi ve böylece yara iyileşmesi sırasında optimum iyileşme koşullarının sağlanması amaçlandı. Enflamasyon belirtilerinin klinik olarak belirgin seviyede azaldığının (Tablo 2 ve 4) tespitinden sonra başlatılan çalışmada; dokuların histolojik incelenmesinde, kontrol grubunda enflamatuar hücre infiltrasyonunun ve diğer enflamasyon belirtilerinin gözlenmesine; derin dişeti ceplerinde yeterli plak ve dıştaşı eliminasyonunun yapılamaması ve ideal oral hijyen koşullarının sağlanamamasının neden olduğu düşünüldü. Yara iyileşmesi sırasında önceden mevcut olan histolojik enflamasyonun var olabileceğini ön görerek, her hastanın kendi kontrol değerini oluşturan ilk gün biyopsileri alındı ve bu nedenle dokudaki mevcut histolojik enflamasyonun sonuçları etkilenmeyeceği düşünüldü.

Koter grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edilen iNOS'un geciken yara iyileşmesinde rol alabileceği düşünülmektedir.

İleriki dönemlerde hayvan modellerinde NOS inhibitörlerinin lokal ve/veya sistemik olarak uygulanmasının periodontal hastalıklara olan etkisinin ve yara iyileşmesini hızlandırabilme yeteneğinin inceleneceği çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ

Hastaların ilk seansta kaydedilen PI, GI, SCD ve SK verileri faz 1 tedavi sonrası ile kıyaslandığında her birinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi.

Elektro cerrahi ve bisturi ile oluşturulan farklı yara yüzeylerinin 3 gün sonra klinik olarak incelendiğinde elektro cerrahi bölgesindeki yaranın daha enflame olduğu tespit edildi. Konvansiyonel periodontal cerrahi ile oluşturulan yara yüzeyinin ise elektro cerrahi ile oluşturulan yara yüzeyine nazaran daha az enflame olduğu ve hemen hemen belirsiz hale geldiği gözlemlendi.

Kontrol grubu ile diğer deney gruplarının kıyaslandığı doku biyopsilerinde; enflamasyon düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği tespit edildi.

iNOS pozitifliği ve iNOS boyanma dereceleri incelendiğinde ise; koter grubunun diğer gruplara nazaran zamana bağlı istatistiksel anlamlı sonuç verdiği tespit edildi.

Alınan doku örneklerinden 3. güne ait olanlarda en çok makrofajların iNOS pozitif boyandığı, bununla birlikte plazma hücrelerinin, polimorfonükleer hücrelerin, fibroblastların ve endotel hücrelerinin çok daha nadir olarak iNOS pozitif boyandığı belirlendi.

Yara iyileşmesinin daha geç olduğu bilinen elektro cerrahi işleminde iNOS pozitifliğinin de yüksek seviyelerde gözlenmesi neticesinde yara iyileşmesindeki gecikmenin iNOS' un sitotoksik etkisinden kaynaklanabileceği düşünüldü.

Biyopsi örneklerinde kontrol grubu ile insizyon grubu arasında hem iNOS pozitifliği hem de iNOS boyanması incelendiğinde istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı. Bu sonuç neticesinde, NO'nun normal dokularda düzenleyici ve koruyucu etkisini sağlamak için düşük miktarlarda bulunduğu ve oluşan enflamasyon şiddetine bağlı olarak üretim miktarındaki değişim ile zararlı etkilerinin ortaya çıktığı düşünüldü.

7. ÖZET

Dişeti büyümeleri klinikte sıklıkla karşılaşılan, birçok hazırlayıcı faktörü olmasına rağmen, ana etkeni bakteri plağı olan periodontal bir hastalıktır. Bütün dişeti büyümelerinin farklı seviyelerde enflamasyon ve beraberinde fibrotik ve genişlemiş bağ dokusu içerdiği günümüzdeki genel kanıdır.

NOS izoenzimleri aracılığı ile üretilen NO serbest radikaldır ve genellikle oksidasyon veya nitrasyona uğrayarak biyolojik ortamlardan uzaklaşır. NO'nun bu kararsız yapısı NO'yu kısa ömürlü bir radikal yapar.

NO ortamda bulunma miktarına göre doku ve hücrelere karşı etkisini kendi belirler. cNOS tarafından üretilen düşük miktarlardaki NO koruyucu ve düzenleyici etki gösterirken, iNOS tarafından yüksek miktarlarda üretilen NO indirekt etki göstererek zararlı etkiler meydana getirir.

Çalışmamızda enflamasyona bağlı dişeti büyümesi olan genç hastalarda split-mouth tekniğı kullanılarak konvansiyonel periodontal cerrahi ve elektro cerrahi yöntemleri ile sekonder yara yüzeyleri oluşturuldu. İlk gün alınan biyopsilerden 3 gün sonra gingivektomi işlemini uygulamadan önce deney grubu biyopsileri alındı ve iNOS ekspresyonu immünohistokimyasal olarak incelendi.

iNOS pozitifliğinin ve iNOS boyanmasının koter grubunda diğer gruplara kıyasla zamana bağlı istatistiksel anlamlı artış tespit edildi. Her üç grup arasında ise enflamasyon derecelerinde zamana bağlı istatistiksel olarak anlamlı değişim saptanmadı.

Klinik ve immünohistokimyasal veriler dikkate alındığında, kötü yara iyileşmesine sahip olduğu literatür bilgisi olarak da bilinen koter grubunun, istatistiksel olarak anlamlı artış gösteren iNOS pozitifliği ile korelasyona sahip olduğu düşünöldü.

Sonuç olarak, iNOS enzim düzeyindeki artışın yara iyileşmesinin gecikmesine neden olabileceği, kullanılacak iNOS inhibitörleri aracılığı ile kontrollü NO üretiminin sağlanması hem periodontal hastalıkları, hem de yara iyileşmesini regüle edebileceği düşünöldü.

8. SUMMARY

Gingival enlargement is a common periodontal disease, caused by a variety of etiological factors and is exacerbated by local bacterial plaque accumulation. There is now general agreement that all gingival overgrowth lesions contain fibrotic or expanded connective tissues with various levels of inflammation.

NO is a free radical that is generated by NOS isoenzymes and is usually removed by oxidation and nitration reactions. The unstable structure of NO is the reason for its short life.

The effects of NO on the tissues vary according to the amount. The lower amount of NO produced by cNOS has a protective and regulative effect while the higher amount has a detrimental effect indirectly.

In the present study secondary wound surfaces were created by periodontal surgery and electro surgery methods using split-mouth technique in young patients who had gingival enlargement caused by inflammation. Three days after obtaining the first control tissue biopsies in control group, tissue biopsies from both groups were obtained before the gingivectomy procedure and the iNOS expression were examined immunohistochemically.

Statistically significant increase was obtained in the cotter group for iNOS positivity and iNOS staining intensity when compared with other groups. The time dependent change of the inflammation levels between the three groups was statistically insignificant.

By the evaluation of clinical and immunohistochemical data, the cotter group which is known to have delayed wound healing, was thought to have a correlation with the statistically significant increasing of the iNOS positivity.

It can be concluded that, the increase of iNOS level might cause delay in wound healing and it might be considered that periodontal disease and wound healing could be regulated by controlling the production of NO by means of iNOS inhibitors applied in tissues.

9. KAYNAKLAR

1. Trackman A, Kantarci C. Connective tissue metabolism and gingival overgrowth. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; p. 15(3):165-175.
2. Slavin J, Taylor J. Cyclosporine, nifedipine and gingival hyperplasia. *Lancet* 1987; 26: 739.
3. Waite IMJ. The present status of the gingivectomy procedure. *Clin Periodontol.* 1975; 2(4) : 241-9.
4. Stern IB, Everett FG, Robicsek K. A pioneer in the surgical treatment of periodontal disease. *Journal of Periodontology* 1965; 36: 265.
5. Lindhe J, Karring T, Lang NP, editors. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry.* 4th Ed. Munksgaard: Blackwell; 2003.
6. Goldman HM. Gingivectomy. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 1951; 4,:1136-57.
7. Cobb CM. Lasers in periodontics: A review of the literature. *Journal of Periodontology* 2006; 77: 545–564.
8. Malkoc S, Buyukyilmaz T, Gelgor M I, Gursel M. Comparison of Two Different Gingivectomy Techniques for Gingival Cleft Treatment. *Angle Orthod* 2004; 74: 375–380.

9. Conroy CW. Current concepts of periodontal therapy using electrosurgery. *Dent Clin North Am.* 1982; 26 :873–890.
10. Witte MB, Barbul A. Role of nitric oxide in wound repair. *Am J Surg.* 2002; 183(4): 406-12.
11. Richard H, Lee MD, Efron, D, Tantry U, Barbul A. Nitric Oxide in the healing wound: A time-course study. *Journal of Surgical Research* 2001; 101: 104–108.
12. Luo J, Chen AF. Nitric oxide: A newly discovered function on wound healing. *Acta Pharmacologica Sinica* 2005; 26 (3): 259–264.
13. Schwentker A, Billiar TR., Nitric oxide and wound repair. *Surg Clin North Am.* 2003; 83(3): 521-30.
14. Derek AD, Franz Mg. Acute wound healing: The biology of acute wound failure. *Surg Clin N Am* 2003; 83: 463–481.
15. Robson MC, Mustoe TA, Hunt TK. The future of recombinant growth factors in wound healing. *Am J Surg* 1998;176: 80–2.
16. Kılıçturgay, K. İmmünoloji, 1. baskı, Bursa: Güneş-Nobel Kitapevi; 1997.
17. Page RC, Daviies P, Allison AC. The macrophage as a secretory cell. *Internat. Rev. Cytol.* 1978; 52: 119-157.

18. Pantalone R, Page, RC. Enzyme production and secretion by lymphokine-activated macrophages. *J. Reticuloendothel. Soc.* 1977; 21: 343-357.
19. Efron DT, Most D, Barbul A. Role of nitric oxide in wound healing. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 3:197-204.
20. Kaplan SS, Biliar T, Curan RD. Inhibition of chemotaxis with N-monomethyl-L-arginine: A Role of cyclic GMP. *Blood.* 1989; 74: 1885-87.
21. Reichner JS, Meszaros AJ, Louis CA, Henry WL, Mastrofrancesco B, Martin BA et al. Molecular and metabolic evidence for the restricted expression of inducible nitric oxide synthase in healing wounds. *American Journal of Pathology* 1999; 154 (4): 1097-1104.
22. Clark RAF editor. Wound repair, Overview and general considerations. *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair.* 2nd edn. New York: Plenum Press, 1996: 3–50.
23. Lappin DF, Kjeldsen M, Sander L, Kinane DF. Inducible nitric oxide synthase expression in periodontitis. *J Periodont Res* 2000; 35: 369-373.
24. Lite T, Dimaio DJ, Burman LR. et al. Gingival patterns in mouth breathers, A clinical and histopathologic study and a method of treatment. *Oral Surg* 1955; 8:382-91.

25. Seymour RA, Thomasson JM, Ellis JS. The pathogenesis of drug-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 1996; 23:165-175.
26. Hassell TM, Burtner AP, McNeal D, et al. Oral problems and genetic aspects of individuals with epilepsy. *Periodontology* 2000 1994; 6:68-78.
27. Shafer WG. Effect of Dilantin sodium analogues on cell proliferation in tissue culture. *Proc Soc Exp Biol Med* 1960; 106:205-7.
28. Shafer WG. Effect of Dilantin sodium on various cell lines in tissue culture. *Proc Soc Exp Biol Med* 1961; 108:694-96.
29. Daley TD, Wysocki GP, Day C, Clinical and pharmacologic correlations in cyclosporine-induced gingival hyperplasia. *Oral Surg* 1986; 62:417-21.
30. Seymour RA, Smith DG, Roger SR. The comparative effects of azathioprine and cyclosporine on some gingival health parameters of renal transplant patients. *J Clin Periodontol* 1987; 14:610-3.
31. Barclay S, Thomason JM, Idle JR, et al. The incidence and severity of nifedipine-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 1992; 19:311-4.
32. Nishikawa S, Tada H, Hamasaki A, et al. Nifedipine-induced gingival hyperplasia: A clinical and in vitro study. *J Periodontol* 1991; 62:30-5.

33. Seymour RA, Ellis JS, Thomason JM, Monkman S, Idle JR. Amlodipine-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 1994; 21: 281-3.

34. Ellis JS, Seymour RA, Thomason JM, Monkman SC, Idle JR. Gingival sequestration of amlodipine and amlodipine-induced gingival overgrowth. *Lancet* 1993; 341:1102-3.

35. Jorgensen MG. Prevalence of Amlodipine-related gingival hyperplasia. *J Periodontol* 1997; 68:676-8.

36. Lafzi A, Farahani RMZ, Shoja MAM. Amlodipine-induced gingival hyperplasia. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11: E480-2.

37. Bökenkamp A, Bohnhorst B, Beier C, et al. Nifedipine aggravates cyclosporine A-induced hyperplasia. *Pediatr Nephrol* 1994; 8:181-5.

38. Thomason JM, Seymour RA, Rice N. The prevalence and severity of cyclosporine and nifedipine-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 1993; 20:37-40.

39. Thomason JM, Seymour RA, Ellis JS, et al. Determinants of gingival overgrowth severity in organ transplant patients. *J Clin Periodontol* 1996; 23:628-34.

40. Amar S, Chung K. Influence of hormonal variation on the periodontium in women. *Periodontology* 2000, 1994; 6:79-87.

41. Raber-Durlacher J, Van Steenberghe TJM, Van Der Velde U, et al. Experimental gingivitis during pregnancy and postpartum. Clinical, endocrinological and microbiological aspects. *J Clin Periodontol* 1994; 21:549-558.
42. Sutcliffe P. A longitudinal study of gingivitis and puberty. *J Periodont Res* 1972; 7:52-8.
43. Mombelli A, Lang NP, Burgin WB, et al. Microbial changes associated with the development of puberty gingivitis. *J Periodontal Res* 1990; 25(6):331-8.
44. Glickman I. The periodontal tissues of the guinea pig in vitamin C deficiency. *J Dent Res* 1948; 27:9.
45. Glickman I. The effect of acute vitamin C deficiency upon the response of the periodontal tissues of the guinea pig to artificially induced inflammation. *J Dent Res* 1948; 27(2):201-10.
46. Kerr DA. Granuloma pyogenicum. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1951; 4(2):155.
47. Bhaskar SN, Jacoway JR. Pyogenic granuloma: Clinical features, incidence, histology and result of treatment. *J Oral Surg* 1966; 24:391-8.
48. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. Carranza's *Clinical Periodontology*. 9th Ed..Philadelphia : W.B. Saunders; 1996.

49. Conroy CW. Current concepts of periodontal therapy using electrosurgery. *Dent Clin North Am.* 1982; 26: 873–890.
50. Flocken JE. Electrosurgical management of soft tissues and restoration dentistry. *Dent Clin North Am.* 1980; 24: 247–253.
51. Oringer MJ. Electrosurgery for definitive conservative modern periodontal therapy. *Dent Clin North Am.* 1969; 13: 53–60.
52. Glickman I, Imber LR: Comparison of gingival resection with electrosurgery and periodontal knives: a biometric and histologic study. *J. Periodontol* 1970; 41:142
53. Pattison AM, Pattison GL, Takei HH. Periodontal instrumentation. In: Carranza FA, Newman MG, eds. *Clinical Periodontology*, 8th ed. WB Saunders Company; 1990: 427–450.
54. Young AT, Malone WFP. Clinical application of research in electrosurgery. *Dent Clin North Am.* 1982;26:835–854.
55. Fricle LL, Rankine AN. Comparison of electrosurgery with conventional fiberotomies on rotational relapse and gingival tissue in the dog. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1990; 97:405–412.
56. Eisenmann D, Malone WF, Kusek J. Electron microscopic evaluation of electrosurgery. *Oral Surg.* 1970; 29:660–668.
57. Williams WD. Electrosurgery and wound healing; a review of literature. *J Am Dent Assoc.* 1984;108:220–227.

58. Pope JW, Gargiulo AW, Staffileno H, Levy S. Effect of electrosurgery on wound healing in dogs. *Periodontics*. 1968; 6 :30–37.
59. Azzi R, Kenney EB, Tsao TF, et al. The effect of electrosurgery upon alveolar bone. *J. periodontal* 1983; 54(2):96-100.
60. Henning F: Healing of gingivectomy wounds in the rat: Reestablishment of the epithelial seal. *J. Periodontol*. 1968; 39(5):265-9.
61. Wilhelmsen NR, Ramfjord SP, Blankenship JR: Effects of electrosurgery on the gingival attachment in Rhesus monkeys. *J. Periodontol* 1976; 47(3):160-170.
62. Glickman I, Imber TR. Comparison of gingival resection with electrosurgery and periodontal knives: a biometric and histologic study. *J Periodontol*. 1970; 41:142–148.
63. Cengizhan, E. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi. Ankara: Türk Dermatopatoloji Derneği; 1996.
64. Prockop DJ, Kivirikko KI, Tuderman L, et al. The biosynthesis of collagen and its disorders. *N Engl J Med* 1979; 301:13–23.
65. Hakkinen L, Uitto VJ, Larjava H. Cell biology of gingival wound healing *Periodontology*. 2000; 24; 127–152.
66. Morgan CJ, Pledger WJ. Fibroblast proliferation. In: Cohen IH, Diegelmann RF, Lindblad WJ, editors. *Wound healing: biochemical and clinical aspects*. Philadelphia: WB Saunders; 1992. p. 63–76.

67. Cromack DT, Sporn MB, Roberts AB, et al. Transforming growth factor beta levels in rat wound chambers. *J Surg Res* 1987; 42:622–8.
68. Franz MG, Kuhn MA, Nguyen K, et al. Transforming growth factor-b2 lowers the incidence of incisional hernias. *J Surg Res* 2001; 97:109–16.
69. Riches DWH. Macrophage involvement in wound repair, remodeling and fibrosis. In: Clark RAF, editor. *The molecular and cell biology of wound healing*, 2nd edition. New York: Plenum Press; 1995. p. 95–141.
70. Polimeni G, Xiropaidis AV, Wikesjo UME. *Biology And Principles Of Periodontal Wound Healing/Regeneration Periodontology*. 2000; 41: 30–47.
71. Juhasz I, Murphy GF, Yan HC, Herlyn M, Albelda SM. Regulation of extracellular matrix proteins and integrin cell substratum adhesion receptors on epithelium during cutaneous human wound healing in vivo. *Am J Pathol* 1993; 43: 1458–1469.
72. Stenn KS, Malhotra R. Epithelialization. In: Cohe IK, Diegelmann RF, Lindblad WJ, ed. *Wound healing. Biochemical & clinical aspects*. Philadelphia: WB Saunders, 1992:115–127.
73. Woodley DT. Reepithelialization. In: Clark RAF, ed. *The molecular and cellular biology of wound repair*. New York: Plenum Press, 1996: 339–354.

74. Yang J, Tyler LW, Donoff RB, Song B, Torio AJ, Gallagher GT, Tsuji T, Elovic A, McBride J, Yung CM, Galli SJ, Weller PF, Wong DT. Salivary EGF regulates eosinophil-derived TGF- α expression in hamster oral wounds. *Am J Physiol* 1996; 270: 191–202.

75. Sciubba JJ, Waterhouse JP, Meyer J. A fine structural comparison of the healing of incisional wounds of mucosa and skin. *J Oral Pathol* 1978; 7: 214–227.

76. Ramfjord SP, Engler WD, Hiniker JJ: A radioautographic study of healing following simple gingivectomy. II. The connective tissue. *J. Periodontol* 1966; 37:179-89.

77. Persson PA: The healing process in the marginal periodontium after gingivectomy with special regard to the regeneration of epithelium (an experimental study of dogs). *Odontol T.* 1959; 67:593-615.

78. Watanabe Y, Suzuki S: An experimental study in capillary vascularization in the periodontal tissue following gingivectomy or flap operation. *J. Dent. Res.* 1963; 42:758.

79. Hamp, S.E., Rosling, B. & Lindhe, J. Effect of chlorhexidine on gingival wound healing in the dog. A histometric study. *Journal of clinical periodontology* 1975; 2: 143-152.

80. Engler WO, Ramfjord S, Hiniker JJ. Healing following simple gingivectomy. A tritiated thymidine radioautographic study. I. Epithelialization. *J. Periodontol* 1966; 37:289.

81. Innes PB. An electron microscopic study of the regeneration of gingival epithelium following gingivectomy in the dog. *J. Periodont. Res.* 1970; 5(3):196-204.
82. Stahl SS, Witkin G, Cantor M, Brown R. Gingival healing. II. Clinical and histological repair sequences following gingivectomy. *Journal of periodontology.* 1968; 39: 109-118.
83. Stanton G, Levy M, Stahl SS. Collagen restoration in healing human gingiva. *J. Dent. Res.* 1969; 48(1):27-31.
84. Novaes AB, Kon S, Ruben MP, et al. Visualization of the microvascularization of the healing periodontal wound. III. Gingivectomy. *J. Periodontol.* 1969; 40(6):359-71.
85. Arnold R, Lunstad G, Bissada N, et al. Alternations in crevicular fluid flow during healing following gingival surgery. *J. Periodont. Res.* 1966; 1(4):303-8.
86. Sandalli P, Wade AB. Alternations in crevicular fluid flow during healing following gingivectomy and flap procedures. *J. Periodont. Res.* 1969; 4(4):314-8.
87. Ramfjord, S.P., Engler, W.O. & Hiniker, J.J. A radioautographic study of healing following simple gingivectomy. II. The connective tissue. *Journal of periodontology* 1966; 37:179-189.
88. Fisher SE, Frame JW, Browne RM, et al: A comparative histological study of wound healing following CO₂ laser and

conventional surgical excision of the buccal mucosa. Arch. Oral Biol. 1983; 28(4):287-91.

89. Malone WF, Eisenmann D, Kusck J. Interceptive periodontics with electrosurgery. J. Prosthet. Dent. 1969; 22(5):555-64.

90. Kılınç, A. Nitrik Oksit: Biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. Ankara: Palme; 2003.

91. Rizk M, Witte MB, Barbul A. Nitric oxide and wound healing. World J. Surg. 2004; 28: 301–306.

92. Brennan PA, Thomas GJ, Langdon JD. The role of nitric oxide in oral diseases. Archives of Oral Biology 2003; 48: 93—100.

93. Paquette DW, Rosenberg A, Lohinai Z, Southan GJ, Williams RC, Offenbacher S, Szabo C. Inhibition Of Experimental Gingivitis In Beagle Dogs With Topical Mercaptoalkylguanidines. J Periodontol 2006;77:385-391.

94. Bökesoy T, Çakıcı İ, Melli M. Farmakoloji Ders Kitabı. 1. baskı. Ankara: Gazi Yayınevi; 2000, 221-227.

95. Yoshinori Horie Y, Wolf R Granger, Neil D. Role of nitric oxide in gut ischemia-reperfusion-induced hepatic microvascular dysfunction. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 1997; 273:1007-1013.

96. Fukumura D, Yuan F, Endo M, Jain RK. Role of nitric oxide in tumor microcirculation blood flow, vascular permeability, and

leukocyte-endothelial interactions. American Journal of Pathology 1997; 150(2):713-25.

97. Jenkins DC, Charles IG, Thomsen IL, Moss DW, Holmes LS, Baylis SA., et al. Roles of nitric oxide in tumor growth. Proc. Natl. Acad. Sci. Usa 1995; 92: 4392-4396.

98. Baldik Y, Talu U, Altinel L, Bilge H, Demiryont M, Aykac-Toker G. Bone Healing Regulated by Nitric Oxide An Experimental Study in Rats. Clinical Orthopaedics and Related Research Number 404,343–352.

99. Farzaneh D, Ruth CB, Ruth DT, Joseph HB. Human Gingival Fibroblasts Produce Nitric Oxide in Response to Proinflammatory Cytokines. J Periodontol 2002; 73:392-400.

100. Eynli AE. L-Arginin'in Stimüle Ettiği Endotel-Bağımsız Gevşemelere NO Sentaz İnhibitörlerinin Etkisi. Yüksek Lisans. Ankara: Ankara Üniveristesi; 1995.

101. Batista AC, Silva TA, Chun JH, Lara VS. Periodontal Diseases: Pathogenesis Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. Oral Diseases 2002; 8, 254–260.

102. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacol Rev. 1991; 43(2):109-42.

103. Bredt D, Schmidt H. The Citrulline Assay, Methods in Nitric Oxide Research, New York: John Wiley; 1997.

104. Satriano J. Arginine pathways and the inflammatory response: Interregulation of nitric oxide and polyamines_: Review. *Amino Acids* 2004; 26: 321–329.

105. Stephen E, Malawista R, Montgomery R, Gretchen BV. Evidence for reactive nitrogen intermediates in killing of Staphylococci by human neutrophil cytoplasts A new microbicidal pathway for polymorphonuclear leukocytes. *The American Society For Clinical Investigation* 1992; 90: 631-636.

106. Nussler AK, Billiar TA. Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase inducible no in human physiology and pathophysiology. *J. Leukoc. Biol.* 1993; 54:171-178.

107. Stichtenoth DO, Frolich JC. Nitric oxide and inflammatory joint diseases. *British journal of Rheumatology* 1998;37:246–257.

108. Miller MJS, Sandoval M. Nitric oxide A molecular prelude to intestinal inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1999; 276:795-799.

109. Nathan, C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *Fasebj* 1992; 6: 3051-3064.

110. Brennan PA, Downie IP, Langdon JD, Zaki GA. Emerging role of nitric oxide in cancer. *British journal of oral and maxillofacial surgery* 1999; 37, 370–373.

111. Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radical Biology & Medicine* 1998; 25: 434-436.

112. Balçioğlu, A. Nitrik oksit: Yeni biyolojik ikincil haberci, H.Ü. Ecz. Fak. Derg., 13, 31-45, 1993.

113. Chayen J, Bitensky L, Mehdizadeh S. Histo- and cytochemistry of guanylate cyclase and nitric oxide synthase: a critical appraisal. *Cell Biochem Funct* 1994; 12(3):179-83.

114. Mittal CK. Nitric oxide synthase: involvement of oxygen radicals in conversion of L-arginine to nitric oxide. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1993; 1: 126-132.

115. Zembowicz A, Hatchett RJ, Jakubowski AM, Gryglewski RJ. Involvement of nitric oxide in the endothelium-dependent relaxation induced by hydrogen peroxide in the rabbit aorta. *Br J Pharmacol* 1993;10(1):151-8.

116. Aydın, A. Nitrik Oksit ve Oksidatif Stres Arasındaki İlişkinin İncelenmesi, İ Doktora tezi. Ankara: Gata Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 1997.

117. Moncada SR, Nistico G, Higgs, EA. Biological relevance of the L-arginine: nitric oxide pathway, nitric oxide: brain and immune system. London: Portland Pres; 1992.

118. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent Hydroxyl Radical Production by Peroxynitrite: Implications for Endothelial Injury from Nitric Oxide and Superoxide (endothelium-derived relaxing factor/desferrioxamine/ischemia/superoxide dismutase). *Nati. Acad. Sci. Usa: Vol. 87Medical sciences*; 1990. p. 1620-1624.

119. Szabó C. The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury. *Shock* 1996; 6(2):79-88.

120. Grace P. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81(5):637-47.

121. Hogg N, Kalyanaraman B, Joseph J, Struck A, Parthasarathy S. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by nitric oxide. Potential role in atherogenesis. *FEBS Lett* 1993; 334 (2): 170-174.

122. Stewart AG, Phan LH, Grigoriadis G. Physiological and pathophysiological roles of nitric oxide. *Microsurgery* 1994;15(10):693-702.

123. Kurose I, Wolf R, Grisham MB, Granger DN. Modulation of ischemia/reperfusion-induced microvascular dysfunction by nitric oxide. *Circ Res* 1994; 74(3):376-82.

124. Cordeiro P, Santamaria E, Qun-ying H. Use of a nitric oxide precursor to protect pig myocutaneous flaps from ischemia-reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg.* 1998;102(6):2040-8.

125. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol rev.* 1991;43(2):109-42.

126. Trachtman H, Futterweit S, Singhal P. Nitric oxide modulates the synthesis of extracellular matrix proteins in cultured rat mesangial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;207(1):120-5.

127. Murrell GAC, Jang D, Williams RJ. Nitric oxide activates metalloprotease enzymes in articular cartilage. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;206(1):15-21.

128. MacIntyre I, Zaidi M, Alam AS. Osteoclastic inhibition: an action of nitric oxide not mediated by cyclic GMP. *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa* 1991; 88: 2936-2940.

129. Wanikiat P, Woodward DF, Armstrong LRA . Investigation of the role of nitric oxide and cyclic gmp in both The activation and inhibition of human neutrophils. *British journal of pharmacology* 1997; 122: 1135 -1145

130. Cockrell A, Llaroux FS, Jourd'heuil D, Kawachi S, Gray L, Heyde HV, Grisham MB. Role of inducible nitric oxide synthase in leukocyte extravasation in vivo. *Biochemical and biophysical research communications* 1999; 257: 684–686.

131. Larfars G, Gyllenhammar H. Measurement of methemoglobin formation from oxyhemoglobin a real-time, continuous assay of nitric oxide release by human polymorphonuclear leukocytes. *J. Immunol. Meth* 1995; 184:53-63.

132. Belenky SN, Robbins RA, Rennard SI, Gossman GL, Nelson KJ, Rubinstein I. Inhibitors of nitric oxide synthase attenuate human neutrophil chemotaxis in vitro. *J lab clin med* 1993; 122(4):388-94.

133. Beauvais F, Michel L, Dubertret L. Exogenous nitric oxide elicits chemotaxis of neutrophils in vitro. *J cell physiol* 1995;165(3):610-4.

134. Vanuffelen B, Van Zee J, Koster BM, Vanstenvenick J. Sodium azide enhances neutrophil migration and exocytosis: involvement of nitric oxide, Cyclic GMP and Calcium. *Life Sci.* 1998; 63,645-657.

135. Vanuffelen B, Van der Zee J, Koster BM, Wanstenvenick JW. Intracellular but not extracellular conversion of nitroxyl anion into nitric oxide leads to stimulation of human neutrophil migration. *Biochem. J.* 1998; 330, 719-722.

136. Stichtenoth DO, Frolich JC. Scientific review Nitric oxide and inflammatory joint diseases. *British journal of rheumatology* 1998;37:246–257.

137. Miller MJS, Sandoval M. Nitric oxide III. A molecular prelude to intestinal inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1999; 276:795-799.

138. Schmidt HH, Ulrich W. NO at work. *Cell* 1994; 78: 919-925.

139. Sato EF, Utsumi K, Inoue M. Human oral neutrophils: isolation and characterization. *Methods enzymol.* 1996;268:503-9.

140. Van der Pauw J, Klein-nulend T, Van den Bos, Burger EH, Everts V, Beertsen W. Response of periodontal Ligament fibroblasts and Gingival fibroblasts to Pulsating fluid flow: nitric Oxide and prostaglandin E2 release and expression Of tissue non-specific Alkaline phosphatase activity. *J Periodont Res* 2000; 35: 335-343.

141. Kikuri T, Hasegawa T, Yoshimura Y, Shirakawa T, Oguchi H. Cyclic tension force activates nitric oxide production in cultured human periodontal ligament cells. *J periodontol* 2000;71(4):533-9.

142. Klein-nulend J, Helfrich LMH, Sterck JGH, Macpherson H, Joldersma M, Ralston SH, Semeins M, Burger H. Nitric oxide response to shear stress by human Bone cell cultures is endothelial nitric oxide Synthase dependent. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1998; 250:108–114.

143. Nakago-matsuo C, Matsuo T, Nakago T. Basal nitric oxide production is enhanced by hydraulic pressure in cultured human periodontal ligament fibroblasts. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2000;117:474-78.

144. Hall NR, Goldstein AL. *Endocrine Regulation of Host Immunity.* New York: Dekker; 1984 p.533-563.

145. Iwanaka T, Arkovitz MS, Arya G, Ziegler MM. Evaluation of operative stress and peritoneal macrophage function in minimally invasive operations. *J Am Coll S* 1997; 184(4):357-63.

146. Shapira L, Frolov I, Halabi A, Ben-nathan DJ. Experimental stress suppresses recruitment of macrophages but enhanced their p. *Gingivalis* lps-stimulated secretion of nitric oxide. *Periodontol* 2000 ;71(3):476-81.

147. Amin AR, Attur MG, Thakker GD, Patel PD, Vyas PR, Patel RN, et al. A Novel Mechanism of Action of Tetracyclines: Effects on Nitric Oxide Synthases. *Bramson Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996; 93:14014–14019.

148. Milano S, Arcoleo F, D'agostino P, Cillar E. Intraperitoneal injection of tetracyclines protects mice from lethal Endotoxemia downregulating inducible nitric oxide synthase in Various organs and cytokine and nitrate secretion in blood. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 1997; 41:117–121.

149. Brüne B, Hartzell P, Nicotera P, Orrenius S. Spermine prevents endonuclease activation and apoptosis in thymocytes. *Exp Cell Res* 1991;195(2):323-9.

150. Endo Y, Matsushima K, Onozaki K, Oppenheim JJ. Role of ornithine decarboxylase in the regulation of cell growth by il-1 and tumor necrosis factor. *J Immunol* 1988; 41(7):2342-8.

151. Trachtman H, Futterweit S, Singhal P. Nitric oxide modulates the synthesis of extracellular matrix proteins in cultured rat mesangial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1995 ;207(1):120-5.

152. Özmeriç N, Elgün S, Uraz A. Salivary arginase in patients with adult periodontitis. *Clin Oral Invest* 2000; 4:21–24.
153. Tannenbaum SR, Weisman M, Fett D. The effect of nitrate intake on nitrite formation in human saliva. *Food Cosmet Toxicol* 1976 ;14(6):549-52.
154. Duncan C, Dougall H, Johnston P, Green S, Brogan R, Leifert C, Smith L, Golden M, Benjamin N. Chemical generation of nitric oxide in the mouth from the enterosalivary circulation of dietary nitrate. *Nat Med* 1995;1(6):546-51.
155. Kankanian AL, Akopov SE. The stimulation of nitric oxide synthesis as a possible protective function of the saliva and its disorders in periodontal diseases. *Stomatologiia* 1996;75(3):19-21.
156. Bodis S, Haregewoin, A. Evidence for the release and possible neural regulation of nitric oxide in human saliva. *Biochem Biophys Res Com* 1993; 194: 347-350.
157. Schäffer MR, Efron PA, Thornton FJ, Klingel K, Gross SS, Barbul A. Nitric oxide, an autocrine regulator of wound fibroblast synthetic function. *J Immunol* 1997; 158(5): 2375-81.
158. Ziche M, Parenti A, Ledda F, Di'era P, Granger HJ, Maggi CA, Presta M. Nitric oxide promotes proliferation and plasminogen activator production by coronary venular endothelium through endogenous bfgf. *Circulation Research* 1997;80:845-852.

159. Weller R. Nitric oxide- a newly discovered chemical transmitter in human skin. *British Journal of Dermatology* 1997; 137: 665-672.

160. Hughes FJ. Cytokines and cell signalling in the periodontium. *Oral Dis* 1995; 1(4):259-65.

161. Johnson DL, Mcallister TN, Frangos JA. Fluid flow stimulates rapid and continuous release of nitric oxide in osteoblasts. *Am J Physiol* 1996; 271; 205-8.

162. Smalt R, Mitchell FT, Howard RL, Chambers TJ. Induction of NO and prostaglandin e2 in osteoblasts by wall-shear stress but not mechanical strain. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1997; 273:751-758.

163. Burger EH, Klein-nulend J. Responses of bone cells to biomechanical forces in vitro. *Adv Dent Res* 1999; 13,93-98.

164. Alamt SMT, Data HK, Moongat BS, Lidburyt BS, Hecker M, Vane JR et al. Osteoclastic inhibition: an action of nitric oxide not mediated by Cyclic GMP. *Proc Natl Acad Sci Usa* 1991; 88:2936-2940.

165. Shibata K, Warbington ML, Gordon BJ, Kurihara H, Van Dyke TE. Nitric oxide synthase activity in neutrophils from patients with localized aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2001;72(8):1052-8.

166. Van Der Pauw MT, Van Den Bos T, Everts V, Beertsen W. Phagocytosis of fibronectin and collagens type I, III, and V by

human gingival and periodontal ligament fibroblasts in vitro. J Periodontol 2001;72(10):1340-7.

167. Matejka M, Partyka L, Ulm C, Solar P, Sinzinger H. Nitric oxide synthesis is increased in periodontal disease. J Periodontal Res. 1998; 33(8):517-8.

168. Lohinai L, Benedek PT, Feheâr EB, Gyoèr A, Rosivall LS, Fazekas ARD, Salzman AL, Szabo C. Protective effects of mercaptoethylguanidine, a selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase, in ligature-induced periodontitis in the rat. British Journal of Pharmacology 1998; 123: 353-360.

169. Mahoney E, Reichner J, Bostom LR, Mastrofrancesco B, Henry W, Albina J. Bacterial colonization and the expression of inducible nitric oxide synthase in murine wounds. American Journal of Pathology 2002;161(6): 2143-52.

170. Hirshberg A, Lib M, Kozlovsky A, Kaplan I. The influence of inflammation on the polarization colors of collagen fibers in the wall of odontogenic keratocyst. Oral Oncology 2007;43: 278– 282.

171. Henkens YM, Van Der Weijden FA, Van Der Keijbus PA. Effects of periodontal treatment on the protein composition of whole and parotid saliva. J. Periodontol 1996; 67: 205-212.

172. Çiğdem G. Kronik periodontitisli hastalara uygulanan farklı girişimlerin nitrik oksit sentaz enzimi üzerine etkisi. Doktora. Ankara: G.Ü.; 2003.

173. Fermin A, Carranza JR, Saglie FR. The gingiva. In: Carranza FA, Newman MG, Glickman I, eds. *Clinical Periodontology*. Philadelphia: W.B. Saunders; 1996:14-38.

174. Brown RS, Sein P, Corio R, Bottomley WK. Nitrendipine-induced gingival hyperplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;70:593-6.

175. Nyska A, Shemesh M, Tal H, Dayan D. Gingival hyperplasia induced by calcium-channel blockers: mode of action. *Med Hypotheses* 1994; 43:115-8.

176. Das SJ, Olsen I. Keratinocyte growth factor is upregulated by hyperplasia-inducing drug nifedipine. *Cytokine* 2000; 12:1566-9.

177. Van Der Vleuten CJ, Trijbels-Smeulders MA, Van De Kerkhof PC. Telangiectasia and gingival hyperplasia as side-effects of amlodipine (Norvasc) in a 3-year-old girl. *Acta Derm Venereol* 1999;79:323-4.

178. Neville BW, Damm DD, Allen CM, et al: *Oral and Maxillofacial Pathology*. Philadelphia, WB Saunders, 1995.

179. Baratieri A. The oxytalan connective tissue fibers in gingival hyperplasia in patients treated with sodium diphenylhydantoin. *J Periodnt Res* 1967;2(2):106-14.

180. Ad Hoc Committee on the Parameters of Care. Phase 1 Therapy. American Academy of Periodontology. J Periodontol 2000; 71(suppl):856-8.

181. Cobb CM. Non-surgical pocket therapy: Mechanical. Ann Periodontol 1996; 1(1):443-90.

182. Fisher SE, Frame JW, Browne RM, et al. A comparative histological study of wound healing following CO₂ laser and conventional surgical excision of the buccal mucosa. Arch Oral Biol 1983; 28(4):287-91.

183. Malone WF, Eisenmann D, Kusck J. Interceptive periodontics with electrosurgery. J Prosthet Dent 1969; 22(5):555-64.

184. Morrisette N, Gold E, Aderem A. The macrophage- a cell for all seasons. Trends Cell Biol 1999;9:199-201.

185. Kröncke K, Fehsel K, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide: cytotoxicity versus cytoprotection –how, why, when, and where? Nitric Oxide: Biol Chem 1997; 1:107–120.

186. Kendall HK, Marshall RI, Bartold PM. Nitric oxide and tissue destruction. Oral Dis 2001; 7: 2-10.

187. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. New Engl J Med 1993; 329: 2002–2012.

188. Panayi GS. The immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. Br J Rheumatol 1993;32(Suppl.):4-14.

189. Roberts FA, McCaffery KA, Michalek SM. Profile of cytokine mRNA expression in chronic adult periodontitis. *J Dent Res* 1997;76:1833–1844.

190. Clancy RM, Amin AR, Abramson SB. The role of nitric oxide in inflammation and immunity. *Arthritis Rheum* 1998;41:1141-1151.

191. Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 1998; 25(4–5): 434–456.

192. De Groote MA, Fang FC. NO inhibitions: antimicrobial properties of nitric oxide. *Clin Infect Dis* 1995; 21 (2): 162–165.

193. Vincendeau P, Daulouede S. Macrophage cytostatic effect on *Trypanosoma musculi* involves an L-arginine-dependent mechanism. *J Immunol* 1991;146(12): 4338–4343.

194. Stuehr DJ, Nathan CF. Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. *J Exp Med* 1989; 169(5): 1543–155.

195. Brent W. Winston, Petr M. Krein, Connie Mowat, Yong Huang. Cytokine-induced macrophage differentiation: a tale of 2 genes *Clin Invest Med* 1999;22(6):236-55.

196. Matejka M, Partyka L, Ulm C, Solar P, Sinzinger H. Nitric oxide synthesis is increased in periodontal disease. *J Periodont Res* 1998;33:517-518.

197. Allaker RP, Mendez LSS, Hardie JM, Benjamin N. Antimicrobial effect of acidified nitrite on periodontal bacteria. *Oral Microbiol Immunol* 2001;16: 253–256.

198. Kendall HK, Haase HR, Li H et al. Nitric oxide synthase type-II is synthesized by human gingival tissue and cultured human gingival fibroblasts. *J Periodont Res* 2000; 35: 194–200.

199. Hirose M, Kazuyuki I, Saito A et al. Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. *J Periodontol* 2001; 72: 590–597.

200. Greenwald RA, Kirkwood K. Adult periodontitis as a model for rheumatoid arthritis (with emphasis on treatment strategies) (editorial). *J Rheumatol* 1999;26:1650-1653.

201. Takeichi O, Saito I, Hayashi M, Tsurumachi T, and T. Production of human-inducible nitric oxide synthase in radicular cysts. *J Endod* 1998;157-160.

202. Hevel JM, White KA, Marletta MA. Purification of the inducible murine macrophage nitric oxide synthase. Identification as a flavoprotein. *J Biol Chem* 1991; 266(34):22789-91.

203. Lowenstein CJ, Glatt CS, Brecht DS, Snyder SH. Cloned and expressed macrophage nitric oxide synthase contrasts with the brain enzyme. *Proc Natl acad Sci USA* 1992;89:6711-5.

204. Xie QW, Cho HJ, Calaycay J, Mumford RA, Swiderek KM, Lee TD, et al. Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from Mouse macrophages. *Science* 1992;256(5054):225-8.

205. MacMicking J, Xie QW, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immunol* 1997;15:323-50.

206. Southan GJ, Zingarelli B, O'Connor M, Salzman AL, Szabo C. Spontaneous rearrangement of aminoalkylisothioureas into mercaptoalkylguanidines, a novel class of nitric oxide synthase inhibitors with selectivity towards the inducible isoform. *Br J Pharmacol* 1996;117:619-632.

207. McCartney-Francis N, Allen JB, Mizel DE, et al. Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *J Exp Med* 1993;178:749-754.

208. Stefanovic-Racic M, Stadler J, Evans CH. Nitric oxide and arthritis. *Arthritis Rheum* 1993;36:1036-1044.

209. Pelletier JP, Jovanovic D, Fernandes JC, et al. Reduced progression of experimental osteoarthritis in vivo by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase. *Arthritis Rheum* 1998;41:1275-1286.

210. Lohinai ZM, Szabo C. Role of nitric oxide physiology and pathophysiology of periodontal tissues. *Med Sci Monit* 1998; 4: 1089-1095.

211. Ralston SH: Nitric oxide and bone: What a gas. *Br J Rheumatol* 1997; 36:831-838.

212. Chae HJ, Park RK, Chung HT et al. Nitric Oxide is a regulator of bone remodelling. *J Pharm Pharmacol* 1997; 49: 897–902.

213. Ralston SH, Ho LP, Helfrich MH et al. Nitric oxide: a cytokine-induced regulator of bone resorption. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 1040–1049.

214. Ralston SH. Nitric oxide and bone: what a gas! *Br J Rheumatol* 1997; 36: 831–838.

215. Evans DM, Ralston SH. Nitric oxide and bone. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 300–305.

216. Murrell GA, Jang D, Williams RJ. Nitric oxide activates metalloprotease enzymes in articular cartilage. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 206: 15–21.

217. Taskiran D, Stefanovic-Racic M, Georgescu HI et al. Nitric oxide mediates suppression of cartilage proteoglycan synthesis by interleukin-1. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 200: 142–148.

218. Bruch-Gerharz D, Ruzicka T, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide in human skin: current status and future prospects. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 1–7.

219. Okamoto T, Akaike T, Nagano T et al. Activation of human neutrophil procollagenase by nitrogen dioxide and peroxynitrite: a novel mechanism for procollagenase activation involving nitric oxide. *Arch Biochem Biophys* 1997; 342: 261–274.

220. Gansauge S, Gansauge F, Nussler AK et al. Exogenous, but not endogenous nitric oxide increases proliferation rates in senescent human fibroblasts. FEBS Lett 1997; 410: 160–164.

TEŞEKKÜR

Hayatım boyunca hep yanımda olan ve desteklerini benden hiç esirgemeyen annem Nesrin Büyüktopcu ve babam İsmail Büyüktopcu'ya, tanıştığım günden bugüne kadar sevgisini ve desteğini her zaman hissettiren sevgili eşim A. Ezgi Ünlü Büyüktopcu'ya,

Peridontoloji eğitimi almama ve doktora yapmama olanak sağlayan ve aralarına kabul eden başta değerli hocam Prof. Dr. Köksal Baloş' a,

Doktora çalışmamın planlanmasında ve yürütülmesinde ilgisini ve yardımını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. İ. Levent Taner' e,

Çalışmamın bir bölümünün yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Benay Tokman' a ve Arş. Gör. Cem Demir' e,

G. Ü. Dişhekimliği Periodontoloji Anabilim Dalı'nda bana destek olan değerli hocalarıma ve sevgili çalışma arkadaşlarıma en içten dileklerle teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

Adı: Tunç

Soyadı: Büyüktopcu

Doğum Yeri ve Tarihi: ANKARA – 08.12.1978

Eğitim Durumu

Doktora :Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D.

Üniversite :Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Lise :Büyük Kolej

Orta Okul :Büyük Kolej

İlk Okul :Büyük Kolej (3. sınıf ve sonrası)

Mimar Sinan İlk Öğretim Okulu (1. ve 2. sınıf)

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: ADO, TDB, TPD

Bilimsel Etkinlikleri

Sözlü Sunum

- 1- Büyüktopcu T, Turgut Z, Uzun Ö. Endodontik tedavi sırasında oluşan periodontal hasarın giderilmesi (Vaka Sunumu), Türk Periodontoloji Derneği 37. Bilimsel Kongresi.

Poster Sunumu

- 1- Büyüktopcu T. İyatrojenik olarak ortodontik tedavi sırasında oluşan mukogingival değişikliklerin tedavisi ve 2 yıllık sonuçları (Olgu Bildirimi)
- 2- Karaduman B, Turgut Z, Büyüktopcu T, Bavbek A. B. Ortodontik lastik kullanımına bağlı olarak gelişen hızlı periodontal ataşman kaybı ve tedavisi (Olgu Bildirimi)