

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**KRONİK PERİODONTİTİSLİ BİREYLERDE CERRAHİ OLMAYAN
PERİODONTAL TEDAVİ İLE OZON UYGULAMASININ KLİNİK
PERİODONTAL PARAMETRELER VE İNFLAMATUAR BELİRTEÇ
SEVİYELERİNE ETKİLERİ**

Dt. Sema Nur SEVİNÇ

**Periodontoloji Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Alparslan DİLSİZ**

ERZURUM

2016

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

KRONİK PERİODONTİTİSLİ BİREYLERDE CERRAHİ OLMAYAN
PERİODONTAL TEDAVİ İLE OZON UYGULAMASININ KLİNİK
PERİODONTAL PARAMETRELER VE İNFLAMATUAR BELİRTEÇ
SEVİYELERİNE ETKİLERİ

Dt. Sema Nur SEVİNÇ

Tez Savunma Tarihi: 11.04.2016

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Alparslan DİLSİZ (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Recep ORBAK (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Turgut DEMİR (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi : Doç.Dr. Hare GÜRSOY (Yeditepe Üniversitesi)
Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK (Atatürk Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ümit ERTAŞ
Fakülte Dekanı

Uzmanlık Tezi
ERZURUM-2016

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
TABLolar DİZİNİ	VII
TEŞEKKÜR	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT.....	XI
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Periodontal Hastalıklar	3
2.1.1. Periodontal Hastalıkların Etiyolojisi.....	4
2.1.2. Periodontal Hastalıkların Patogenezi ve İmmunolojisi	5
2.2. Sitokinler.....	8
2.2.1. Periodontal Hastalık Patogenezinde Sitokinlerin Rolü.....	9
2.2.2. Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF- α)	9
2.2.3. İnterlökin 1 (IL-1).....	10
2.2.4. İnterlökin 6 (IL-6).....	11
2.2.5. İnterlökin 10 (IL-10).....	12
2.3. Matriks Metalloproteinazlar (MMP)	13
2.3.1. MMP-9.....	14
2.4. Dişeti Oluşu Sıvısı.....	14
2.5. Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi.....	17
2.5.1. BPT ve BPT' yi Destekleyen Ajanlar	17
2.6. Ozon.....	18
2.6.1. Yapay Ozon Üretimi ve Ozon Jeneratörleri:	19

2.6.1.1. UV Ozon Jeneratörleri:	19
2.6.1.2. Düşük Frekans Ozon Jeneratörleri:.....	19
2.6.1.3. <i>Corona-Discharge</i> Esaslı Ozon Jeneratörleri:	20
2.6.2. Medikal Ozon Ve Etki Mekanizması	20
2.6.3. Diş Hekimliğinde Ozon Kullanımı	21
2.6.3.1. Periodontolojide Ozon Kullanımı	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Hasta Seçimi	27
3.1. Güç Analizi	28
3.2. Çalışma Grupları ve Planı.....	28
3.3. Klinik Ölçümler	30
3.3.1. Plak İndeksi (Pİ) (Silness& Loe, 1964) ¹⁷⁶	30
3.3.2. Gingival İndeks (Gİ) (Loe&Silness, 1963) ¹⁷⁷	30
3.3.3. Sondalanabilir Cep Derinliği (SCD).....	31
3.3.4. Sondalamada Kanama (SK) (Ainamo & Bay) ¹⁷⁸	31
3.3.5. Klinik Ataşman Seviyesi (KAS).....	31
3.4. Radyografik Değerlendirme	31
3.5. Örneklerin Toplanması ve Klinik İşlemler	32
3.5.1. DOS Örneklerinin Elde Edilmesi	32
3.5.2. Serum Örneklerinin Alınması	33
3.5.3. Başlangıç Periodontal Tedavi	33
3.6. Biyokimyasal Değerlendirme	35
3.6.1. TNF- α Seviyesinin Belirlenmesi	35
3.6.2. IL-1 β Seviyesinin Belirlenmesi	36
3.6.3. IL-6 Seviyesinin Belirlenmesi	37

3.6.4. IL-10 Seviyesinin Belirlenmesi	37
3.6.5. MMP-9 Seviyesinin Belirlenmesi.....	38
3.7. İstatistiksel Analiz.....	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. Demografik Bulgular	40
4.2. Klinik Bulgular	40
4.3. Laboratuvar Bulguları.....	42
4.4. Korelasyonlar.....	46
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	55
7. KAYNAKLAR.....	56
EKLER	68
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	68
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	69
EK-3. PERİODONTAL MUAYENE FORMU.....	70
EK-4. HASTA BİLGİLENDİRME VE ONAM FORMU.....	72

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
µg	: Mikrogram
2,3-DPG	: 2,3-difosfogliserat
AHE	: Ağız Hijyeni Eğitimi
BPT	: Başlangıç Periodontal Tedavi
CFU	: Colony-Forming Units
CO	: karbonmonoksit
DOS	: Dişeti Oluğu Sıvısı
DYT	: Diş Yüzey Temizliği
ELISA	: Enzyme Linked Immunabsorbent Assay
ESM	: Ekstrasellüler Matriks
Gİ	: Gingival İndeks
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
H₂S	: Hidrojen Sülfür
IFN-γ	: İnterferon Gama
Ig	: İmmünglobin
IL	: İnterlökin
KAS	: Klinik Ataçman Seviyesi
KP	: Kronik Periodontitis
KYD	: Kök Yüzey Düzleştirme
LPS	: Lipopolisakkarit
MDP	: Mikrobiyal Dental Plak
mm	: Milimetre
MMP	: Matriks Mettalloproteinaz

NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa Beta
NH₃	: Amonyak
nm	: Nanometre
NO	: Nitrikoksit
O	: Monoatomik oksijen
O₂	: Oksijen
O₃	: Ozon
OPG	: Osteoprotegrin
PBS	: Fosfatla Tamponlanmış Salin
pg/ml	: pikogram/mililitre
PGE₂	: Prostaglandin E-2
PI	: Plak İndeksi
PMNL	: Polimorfonükleer lökositler
Ppm	: mg/l
SCD	: Sondalamada Cep Derinliği
SK	: Sondalamada Kanama
sn	: Saniye
TGF-β	: Transforme Büyüme Faktör
Th	: Yardımcı T Hücresi
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
TNF-β	: Tümör Nekroz Faktör Beta
UV	: Ultraviyole
μl	: Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Resim / Şekil No:	Sayfa No:
Şekil 3.1. Çalışma Planı.....	29
Resim 3.1. Periotron 8000	32
Resim 3.2. Lokal anestezi altında Gracey küretler ile KYD işlemi	33
Resim 3.3. Ozonytron XP cihazının KPX kapiller uç ile gaz ozon uygulanması	34
Resim 3.4. Ozonytron XP cihazı	34
Şekil 4.1: Klinik bulgular grafiği	41
Şekil 4.2. DOS ve serum TNF- α konsantrasyon bulgular grafiği	43
Şekil 4.3. DOS ve serum IL-1 β konsantrasyon bulgular grafiği	44
Şekil 4.4. DOS ve serum IL-6 konsantrasyon bulgular grafiği	44
Şekil 4.5. DOS ve serum IL-10 konsantrasyon bulgular grafiği	45
Şekil 4.6. DOS ve serum MMP-9 konsantrasyon bulgular grafiği.....	45

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No:

Sayfa No:

Tablo 2.1: Sitokinlerin Sınıflandırılması.....	8
Tablo 4.1: Gruplara göre yaş ve cinsiyet dağılımı	40
Tablo 4.2: Klinik Periodontal Ölçümlerin Gruplar arasında, başlangıç ve 8.haftadaki karşılaştırılması	41
Tablo 4-3. Biyokimyasal Parametrelerin Gruplar arasında, başlangıç ve 8.haftadaki karşılaştırılması	43
Tablo 4.4. BPT ve ozon tedavisi sonrası klinik periodontal ölçümler ile biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar	46

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle her zaman yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Alparslan DİLSİZ'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, mesleki eğitimime katkılarını asla unutamayacağım başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Recep ORBAK'a ve bölümümüzdeki diğer öğretim üyelerine, tezimin biyokimyasal analizlerin yapılmasını sağlayan ve istatistiksel analiz aşamasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK'e, 2011/297 nolu BAP ile ozon cihazını fakültemize kazandıran ve kullanımımıza sunan Sayın Prof. Dr. Taşkın GÜRBÜZ, Yrd. Doç. Dr. Fatih ŞENGÜL ve proje ekibine, yardımlarıyla uzmanlık eğitimimi kolaylaştıran sevgili bölüm arkadaşlarıma ve bölüm personeline, hayatım boyunca desteklerini hissettiğim sevgili aileme tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

Sema Nur SEVİNÇ

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin 2014/160 nolu projesinden destek alınarak yapılmıştır.

ÖZET

Kronik Periodontitisli Bireylerde Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi İle Ozon Uygulamasının Klinik Periodontal Parametreler ve İnflamatuvar Belirteç Seviyelerine Etkileri

Amaç: Medikal ozon tedavisi, periodontal cepteki patojenleri elimine ettiği ve yara iyileşmesini hızlandırdığı bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı, periodontal hastalıklı bireylerde ozon tedavisinin hem klinik, hem de biyokimyasal olarak etkilerinin değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya sistemik olarak sağlıklı ve Kronik Periodontitisli (KP) 50 birey, Başlangıç Periodontal Tedavi (BPT)'ye ilaveten gaz ozon tedavisi uygulananlar Test grubuna, tek başına BPT uygulananlar Kontrol grubuna eşit sayıda olacak şekilde rastgele dağıtılmıştır. Periodontal tedaviye başlamadan önce ve 8 hafta sonra hastalardan Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS) ve kan serum örnekleri alınmış, tüm bireylerden Gingival İndeks (Gİ), Plak İndeksi (Pİ), Sondalamada Kanama (SK), Sondalamada Cep Derinliği (SCD) ve Klinik Ataçman Seviyesi (KAS)'i içeren klinik periodontal ölçümler elde edilmiştir. Test ve kontrol grubuna BPT yapılmış, test grubuna ilaveten gaz ozon tedavisi uygulanmıştır. Tedavi öncesi ve sonrası, DOS ve serum örneklerinde TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 değerleri ELİSA metoduyla saptanmış ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Hem test hem de kontrol grubunda BPT sonrası klinik periodontal ölçümlerde (Pİ, Gİ, SK, SCD ve KAS) başlangıç değerlerine göre anlamlı derecede azalma saptanmıştır ($p<0.05$). Test grubunda, kontrol grubuna göre, klinik periodontal ölçümlerde anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir ($p<0.05$). Her iki grupta da DOS IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinde başlangıç değerlerine göre, BPT sonrası istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). Kontrol grubunda

DOS TNF- α seviyesinde başlangıç değerlerine göre, BPT sonrasında anlamlı derecede azalma saptanmıştır ($p<0.05$). Test grubunda kontrol grubuna göre, DOS MMP-9 seviyesinde anlamlı derecede azalma gözlenmiştir ($p<0.05$).

Test grubunda, serum IL-6, IL-10, MMP-9 seviyelerinde başlangıç değerlerine göre BPT sonrası anlamlı derecede azalma olduğu gözlenirken ($p<0.05$), kontrol grubunda ise serum IL-6 ve MMP-9 seviyelerinde anlamlı derecede azalma olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Test grubunda serum TNF- α seviyesinde başlangıç değerlerine göre BPT sonrası anlamlı derecede artış olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Her iki grupta klinik periodontal ölçümler ile biyokimyasal parametreler arasında korelasyon olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Klinik periodontal ölçümler ve biyokimyasal parametreler arasında gözlenen yakın ilişki, klinik periodontal iyileşmenin biyokimyasal parametreleri etkilediği, BPT ve ilaveten gaz ozon tedavisinin DOS hacmini azaltarak klinik periodontal ölçümleri iyileştirdiği ve biyokimyasal parametrelere etki ettiği de gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Başlangıç periodontal tedavi, Dişeti oluğu sıvısı, Kronik periodontitis, Ozon, Sitokinler, Matriks metalloproteinaz.

ABSTRACT

Effects of Ozone Therapy with Nonsurgical Periodontal Treatment on Clinical Parameters and Inflammatory Cytokines in Chronic Periodontitis Patients

Objective: It has been known that medical ozone therapy eliminated pathogens in periodontal pocket and accelerated wound healing. The objective of this study is to evaluate of ozon therapy on both clinical and biochemical effects in periodontally patients.

Material Methods: Two groups of patients were investigated in this study; a population of patients were systemically healthy and also 50 patients with chronic periodontitis. They were randomized equally to two groups; control group only treated with Initial Periodontal Therapy (IPT), test group treated with IPT an adjunct to gasesos ozone therapy.

Gingival Crevicular Fluid (GCF) and serum samples were collected from patients before periodontal therapy and after 8 weeks, Gingival Index (GI), Plaque Index (PI), percentage of Bleeding on Probing (BOP%), Probing Pocket Depth (PPD) and Clinical Attachment Level (CAL) included clinical periodontal measurements were obtained from all patients. IPT applied to the test and control groups, in addition, ozone therapy was applied to the test group. Before and after treatment, in GCF and serum samples levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 and MMP-9 were determined by ELISA method and evaluated statistically.

Results: It was determined that after IPT in both the test and control groups clinical periodontal measurements (PI, GI, BOP, PPD and CAL) significantly decreased compared to the baseline ($p < 0.05$). In the test group compared to the control group, it was detected that the clinical periodontal measurements decreased significantly ($p < 0.05$). In both groups, IL-1 β , IL-6, IL-10 and MMP-9 levels compared to the

baseline, a statistically significant reduction was observed in the GCF after IPT ($p < 0.05$). In control group, after IPT, in the GCF TNF- α levels were statistically decreased significantly, compared to baseline levels ($p < 0.05$).

In test group, a significant decrease was observed in the GCF MMP-9 levels, compared with control group ($p < 0.05$).

In the test group, according to baseline serum IL-6, IL-10, MMP-9 levels were significantly decreased after the IPT ($p < 0.05$), while the significant decrease in serum IL-6 and MMP-9 levels in the control group was found ($p < 0.05$).

In the test group, serum levels of TNF- α was significantly increased after the IPT compared with baseline ($p < 0.05$).

In two groups, all of biochemical parameters and clinical periodontal measurements were found to be correlation between them.

Conclusion: It was seen that observed association between clinical periodontal measurements and biochemical parameters that affected the biochemical parameters of the clinical periodontal healing, IPT and additionally the gaseous ozone treatment that improved clinical periodontal measurements by reducing the GCF volume and also that affected on biochemical parameters.

Key Words: Cytokins, Chronic periodontitis, Gingival crevicular fluid, Initially periodontal treatment, Ozone, Matrix Metalloproteinases

1.GİRİŞ

Periodontitis, mikrobiyal patojenler ile konağın savunma mekanizmaları arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkan, dişler ve çevresindeki sert ve yumuşak dokuları etkileyen enfeksiyöz bir hastalıktır.^{1,2} Periodontitis klinik olarak dişeti enflamasyonu, periodontal cep oluşumu, klinik ataşman kaybı ve alveoler kemik rezorpsiyonu ile karakterizedir.³ Periodontal hastalıkları, başlatan etken bakteriler olmasına rağmen, hastalığın ilerleyişinde asıl neden konak cevabıdır. Hastalığın şiddeti, doku yıkımını uyararak ve inhibe eden sitokinler arasındaki dengesizlik sonucundan kaynaklandığı bildirilmektedir.⁴

Periodontal hastalıkların tedavisi, periodontal dokularda gelişen enflamasyonu kontrol altına almak için supra ve subgingival sahada bulunan mikrobiyal dental plağın, diş taşının ve nekrotik sementin kök yüzeylerinden mekanik olarak uzaklaştırılması esasına dayanır.^{5,6} Kronik periodontitis hastalarında BPT klinik bulguların düzelmesini sağladığı gibi, periodontal hastalık etkeni olan subgingival mikrobiyal bakteri ve periodontopatojenlerin sayısını azalttığı bildirilmiştir.⁷ Ancak çok köklü dişler, furkasyon alanları, kök konkaviteleri, interproksimal bölgeler ve derin ceplerin mevcudiyetinde periodontal enstrümantasyonun güçleşmesiyle subgingival periodontopatojenlerin eliminasyonu yetersiz kaldığından, periodontal tedavide lokal ve sistemik antibiyotikler, topikal antiseptikler gibi anti-infektif ajanlar ile lazer ve ozon gibi ilave uygulamaların kullanılması tavsiye edilmektedir. Medikal ozonun antibakteriyel, antifungal, ve antivirütik etkileri yanında antienflamatuar ve yara iyileşmesini hızlandırıcı etkilerinin olduğu bilinmektedir.

Yapılan literatür taramasında; BPT'ye ilaveten uygulanan gaz ozonun antienflamatuar etkilerini değerlendiren çalışmalara rastlanmamıştır. Bu nedenle KP'li

hastalarda BPT'ye ilave olarak uygulanan gaz ozon tedavisinin klinik ve biyokimyasal olarak etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal Hastalıklar

Periodontal hastalık, sık rastlanan ve toplumun genelini farklı oranlarda etkileyen, diş destek dokularına zarar vererek büyük oranda diş kayıplarına yol açan multifaktöriyel bir hastalıktır.^{3, 8, 9}

Periodontal hastalıkların klinik bulguları, immünolojik özellikleri, hastalıktan etkilenen periodontal bölgeler, doku değişikliği veya kaybının derecesi, hastalığın prognozu, mikrobiyal flora gibi kriterler değerlendirildiğinde bilimsel tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelerle birlikte günümüze kadar farklı sınıflandırmalar yapılmıştır.¹⁰ Günümüzde periodontal hastalıkların sınıflandırılmasında, 1999 yılında yapılan Amerikan Periodontoloji Akademisinin düzenlediği “International Workshop for the Classification of Periodontal Diseases” sınıflandırması geçerlidir. Bu sınıflandırma genel itibariyle şöyledir:

- Gingival hastalıklar
- Kronik periodontitis
- Agresif periodontitis
- Sistemik hastalıkların yansıması olarak periodontitis
- Nekrotizan periodontal hastalıklar
- Periodonsiyum apseleri
- Endodontik periodontal lezyonlar
- Kazanılmış veya gelişimsel deformiteler ve durumlar

Periodontitis, genel itibariyle episodik bir hastalıktır. Hızlı doku yıkımının olduğu kısa zaman dilimlerini, tamir fazları izler. Ardından hastalığın remisyonunda olduğu uzun bir dönem gelir.¹¹ Teşhis; esas itibariyle cep derinliğinin ve ataşman kaybının periodontal sond ile ölçülmesi ve radyografide görülen marjinal kemik kaybı

ile koyulmaktadır. Fakat bu metotlar, hastalığın o anki durumunu değil, önceden geçirilmiş hastalığı da gösterebilmektedir. Bu yüzden enflamasyonun da değerlendirilmesi gerekmektedir. Hastalık belirtileri, sondalamada kanama, süpürasyon ve dişetindeki boyut, şekil, renk değişimleri olarak kabul edilmektedir.¹²

Periodontitisler içinde en sık görülen tip kronik periodontitistir.⁹ Kronik periodontitiste konak savunma elemanlarının mikrobiyal faktörler ile mücadelesi sonucu, gingivitis ile başlayan ve tedavi edilmediği takdirde hastalığın ilerlemesiyle alveol kemik yıkımı ve ataşman kaybı meydana gelmektedir.⁹ Yavaş ilerleyen bir hastalık olduğundan, 30'lu yaşlar ve daha sonrasında klinik olarak teşhis edilebilmektedir. Sıklığı ve şiddeti yaşla birlikte arttığı bilinmektedir. Kronik periodontitisten genellikle tüm ağız etkilenmektedir, fakat plak ve diş taşı yoğun olduğu yerlerde yıkımın şiddeti artmaktadır. Lezyonun ilerleyip kemik kaybının artmasıyla, dişlerde mobilite artışı ve cep içerisinden iltihabi eksüda akışı görülmektedir.¹³

2.1.1. Periodontal Hastalıkların Etiyolojisi

Periodontal hastalıkların başlaması ve ilerlemesi için primer etiyolojik ajan spesifik bakterilerdir. Ancak, periodontitis nedeniyle meydana gelen doku yıkımı, enfeksiyon ile başlayarak, konağın koruyucu ve yıkıcı mekanizmalarındaki dengelerin bozulması sonucu oluşur.¹⁴

Periodontitis; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.actinomycetemcomitans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis.*), *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*), *Spiroketler*, *Prevotella intermedia* (*P.intermedia.*), *Treponema denticola* (*T.denticola*)^{15, 16} gibi subgingival mikrobiota tarafından başlatılmakla birlikte, bağ dokusu yıkımı mediyatörlerinin, büyük ölçüde patojenik enfeksiyona karşı oluşan konak cevabı tarafından üretildiği kabul edilmektedir. Hastalığa duyarlı konakta, mikrobiyal virulans faktörleri, periodontal dokuların

yıkımına neden olabilecek konak kaynaklı enzimlerin ve proenflamatuvar sitokinlerin salınmasını tetiklemektedir.¹⁷⁻¹⁹ Sonuçta periodontitis mikroorganizmaların diş destek dokularında oluşturdukları enfeksiyonla başlayan, ardından konağın enflamatuvar cevabı sonucu doku yıkımının oluşumu ile karakterize bir hastalıktır.²⁰⁻²²

Risk faktörleri; hastalığa yakalanma ihtimalini arttıran, çevresel, davranışsal veya biyolojik faktörlerdir. Periodontal hastalıklar için belirlenmiş risk faktörleri arasında; sigara içme, diyabet, patojenik bakteriler ve dişler üzerindeki mikrobiyal eklentiler bulunmaktadır. Plak birikimi periodontal yıkımın en sık rastlanan sebebidir. Diş taşı, subgingival alana uzanan çürük veya restorasyonlar, açığa çıkmış furkasyon bölgeleri, diş çapraşıklıkları, kök yüzeyindeki konkavite ve gelişim olukları gibi plak tutulumuna neden olan veya plağın uzaklaştırılmasını engelleyen unsurlar hastalığın gelişimini de lokal olarak etkilemektedir.^{23, 24, 13, 16}

Periodontal hastalıkların gelişimi klinik ve histopatolojik olarak değerlendirildiğinde, başlangıç, erken, yerleşik ve ilerlemiş periodontal lezyon olmak üzere 4 evreden oluştuğu bilinmektedir. Başlangıç ve erken lezyon gingivitisin erken dönem evrelerini, yerleşik lezyon kronik gingivitis ve ilerlemiş lezyon ise periodontitisin histopatolojik aşamasını belirtmektedir.²⁵

2.1.2. Periodontal Hastalıkların Patogenezi ve İmmunolojisi

Periodontal hastalıkların patogenezi, konak yanıtındaki değişikliklere bağlı olarak periodontal dokularda meydana gelen yıkım ile ifade edilmektedir. Mikrobiyal plaktaki bakteriyel ürünler konaktaki enflamatuvar süreci stimüle ederek, doku yıkım kapasitesine sahip olan çeşitli sitokin ve enzimlerin salınımına neden olmaktadır.²⁶

Periodontopatojenler 3 farklı yoldan doku yıkımı oluşturabilmektedir:

1-) Direkt proteolitik enzimleri ile konak hücrelerinin etkisi olmaksızın doku yıkımı yapabilir,

2-) Toksin, enzim ve lipopolisakkarit (LPS) gibi virülans faktörleri olarak bilinen bakteriyel ürünler, yıkım enzimleri üreten konak hücrelerini uyarabilir,

3-) İmmün yanıtı stimüle ederek konak hücrelerinden olan lenfosit ve makrofajlardan bir veya daha çok yıkım yolunu aktive eden sitokinlerin salınımına neden olabilir.^{27, 28}

Mikrobiyal enfeksiyonu ortadan kaldırmak ve periodontitis gelişimini önlemek için periodonsiyumda birçok mekanizma birlikte rol oynamaktadır. Dokulara bakteri geçişi gingival, sulkuler ve birleşim epitelinin bütünlüğü sayesinde engellenmiş olur. Periodontal cebin ve sulkusun düzenli yıkanmasını dişeti oluğu sıvısı sağlamaktadır. Subgingival plak bakterilerine karşı kompleman proteinleri ve spesifik antikorlar bulunduran serumla dişeti oluğu sıvısı (DOS) antimikrobiyal etki gösterir. Mikrobiyal plağın apikale ve laterale doğru genişlemesi biyofilm üzerinde biriken nötrofiller yardımıyla önlenmiş olur. Salya ürünleri ağız boşluğunun düzenli yıkanmasını sağlarken, bakterisid etki salya içeriğindeki aglutinin ve antikorlar ile gerçekleşir. Epitel ve ekstraselüler matriksteki hızlı deskuamasyon döngüsü, hasar görmüş dokuların hızlıca yenilenmesini sağlar.^{29, 30} İlk savunma hattı, doku içinde bulunan nötrofil, antikor ve kompleman sistemi arasındaki denge sayesinde olur. Subgingival plakta bulunan periodontopatojenlerin hastalık başlatmak ve ilerletmek için gerekli olan sayısal seviyeye ulaşmasıyla koruyucu bariyerler aşılmış olur.²⁹

Periodontal dokular üzerinde bakterilerin etkileri direkt olarak görülebileceği gibi, dokularda dolaylı olarak hasar da oluşturabilmektedirler. Bağ doku ve kemikte yıkıma etki eden hücresel mekanizmaların uyarımına, dişeti dokularındaki hücresel yapılara giren bakteriyel toksinler neden olur. Hastalığın erken evrelerinde bakteri ve ürünlerinin direk patolojik etkilerine; P.gingivalis'in, periodonsiyumda yıkıma neden olan proteaz, kollejenaz, fibrinolizin, fosfolipaz A gibi enzimler salgılaması gibi

örnekler verilebilir. Ayrıca oluşan H₂S, amonyak (NH₃), yağ asitleri gibi metabolik ürünler de çevre hücrelerde toksik etki gösterirler.³¹⁻³⁴

İltihabi süreç ile birlikte, mikroorganizmaların antijenleri, lipopolisakkaridler (LPS) ve diğer virulans faktörleri, konak yanıtının başlamasına neden olur. Konak bu duruma karşı antikorlar ve Polimorfonükleer lökositler (PMNL) ile cevap verir. Hastalığın ilerlemesiyle ortama konak hücrelerinden sitokin, büyüme faktörleri, prostonoid ve matriks metalloproteinaz gibi faktörler salınır. İltihaba bağlı değişiklikler sonucunda kan damarları genişler ve hücre permeabilitesi artar, lökositler için farklı tipte adezyon molekülleri salgılanır. Savunmada yer alan öncelikli hücreler, bu kan damarlarından göç eden nötrofillerdir.^{30, 35, 36} Konak savunmasıyla sınırlandırılmayan enfeksiyonun ilerlemesi ile bağlantı epitelinin kural kısmında yer alan hücreler proliferer olur ve böylece bir periodontal cep meydana gelir. Ardından apikalde yer alan hücrelerin kök yüzeyi boyunca apikale ilerlemesiyle cep epitelinden ülserasyon oluşur. Erken dönemlerde lenfositlerin özellikle T (Th1 ve Th2) ve B hücrelerinin baskın olduğu lökosit infiltrasyonu görülür. Geç dönemdeyse, aktive olmuş T hücreleri, makrofajlar ve nötrofillerin yanında B hücreleri ve antikor üreten plazma hücreleri ortama dahil olur. İlerleyen hastalık sonucu, periodontal cep derinleşir, dişeti ve periodontal ligamentin ekstrasellüler matriks içeriği parçalanır ve alveol kemiği rezorbe olur.³⁷

İmmünopatolojinin önemli hücrelerinden olan nötrofiller, periodontal lezyonlarda savunma görevinde de rol oynamaktadır. Nötrofiller, doku yıkım proteazlarını da içeren lizozomal enzimleri sentezler ve ortama salırlar. İltihabi cevap ve ataşman kaybı, doku yıkıcı enzimlerin, kemik rezorbe eden lipidlerin ve diğer iltihabi mediyatörlerin katılımı ile oluşur.³⁸ Periodontal hastalıkların patogenezinin doğru bir şekilde anlaşılabilmesi için sitokinlerin ve etki yöntemlerinin bilinmesi gereklidir.

2.2. Sitokinler

Sitokinler, iltihap ve bağışık cevabın başlangıcında veya etkin aşamalarında salınan, hücrel düzenleyiciler olup, farklı efektör hücrelerin aktivasyonu ve üretimi üzerine majör etkilidir. Birçok fizyolojik cevapta, önemli rol oynayan geniş bir hücre grubu tarafından üretilen, ancak ana kaynakları T hücreleri ve makrofajlar olan düşük ağırlıklı proteinler veya glikoproteinlerdir.³⁹ Sitokinler, otokrin ve parakrin yapıdadırlar ve kendi kendilerinin salımını kontrol ederler.⁴⁰ Sitokinler immün cevabın süresi ve şiddetini etkilemektedir, bununla birlikte gingivitis ile ilgili iltihabi cevabın, periodontal hastalıklarda doku yıkımının ve adaptif immün cevabının düzenlenmesi ile ilişkilidir. Sitokinler genellikle geçici olarak üretilen, pikomolar konsantrasyonlarda etkili olan ve spesifik hücre reseptörleri ile etkileşime giren moleküllerdir.⁴¹

Tablo 2.1: Sitokinlerin Sınıflandırılması⁴²

SİTOKİNLERİN SINIFLANDIRMASI

<i>Büyüme faktörleri</i>	PDGF, EGF, FGF, IGF, VEGF
<i>Lenfokinler</i>	IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10
<i>Tümör Nekroz Faktörleri</i>	TNF- α , TNF- β
<i>İnterferonlar</i>	IFN- α , IFN- β , IFN- γ
<i>Transforme edici büyüme faktörleri</i>	TGF- α , TGF- β
<i>Koloni stimüle eden faktörler</i>	GM-CSF, G-CSF, M-CSF, EPO

Bazı sitokinler (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12) proenflamatuvar fonksiyon görürken, bazıları da (TGF- β , IL-1Ra, IL-4, IL-10, IL-11) antienflamatuvar fonksiyonlara sahiptirler. Bu sitokinler enflamatuvar lezyonlarda lokal ya da sistemik olarak üretilir ve doku yıkımına katkıda bulunurlar.⁴³

Kısaca, bakteriyel enfeksiyona cevap olarak oluşan doku yıkımı, proenflamatuvar sitokinler tarafından yürütülürken, antienflamatuvar sitokinler yıkım sürecini kontrol etmeye çalışırlar.³⁹

2.2.1. Periodontal Hastalık Patogenezinde Sitokinlerin Rolü

Periodontal hastalıkları, başlatan etken bakteriler olmasına rağmen, hastalığın ilerleyişinde asıl neden konak cevabıdır. Hastalığın şiddeti, doku yıkımını uyaran ve inhibe eden sitokinler arasındaki dengesizlik sonucu oluşur.⁴

Histolojik çalışmalarla, lenfositlerin ilerlemiş periodontal lezyonlarda baskın hücre tipi olduğu kanıtlanmıştır. Kronik enflamasyonda, immün düzenleyici etkisi olan birçok sitokinin kaynağı T lenfositlerdir. Yapılan araştırmalar farklı T hücre alt grupları üzerinde yoğunlaşmıştır. İmmün yanıtın düzenlenmesi ve periodontal hastalığın ilerlemesinde T hücre alt gruplarının ürettikleri sitokin profilinin önemli rol oynadığı bildirilmiştir.^{44, 45}

Birçok araştırmacı, periodontitisli hastaların DOS'unda TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8 varlığını tespit etmişler ve DOS'taki bu sitokin seviyeleri ile periodontal doku yıkımı şiddeti arasında ilişki olduğunu rapor etmişlerdir.^{46-50, 51, 52} Bakteriyel lipopolisakaritler (LPS) tarafından inflamatuvar süreç aktivasyonu ile başlayan ve alveol kemiğin ve periodontal bağ dokunun yıkımıyla sonuçlanan periodontal hastalıklarda DOS TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 ve IL-10 gibi birçok inflamatuvar sitokin salınımı araştırmalarda gösterilmiştir.^{46, 48, 53-55} Periodontal hastalığı etkileyen bazı sitokinler aşağıda özetlenmiştir.

2.2.2. Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF- α)

LPS ile uyarılan hayvanların serumunda ilk defa bulunduğu tümör nekroz mediyatörü olarak tanımlanmıştır. Bu isim, tümör inhibisyonu yaptığından ve endotoksinlerin uygulanmasının ardından nekroza neden olduğu için verilmiştir. TNF- α ve TNF- β olmak üzere iki tipi vardır.⁵⁶ TNF- α periodontal dokulardaki monositler, PMNL, dişeti ve periodontal ligament fibroblastları, epitel hücreleri, endotel hücreleri ve osteoblastlar gibi birçok hücreden salınmaktadır.^{57, 58}

Henüz periodontal cep oluşmamış bölgelerde, periodontal hastalık klinik bulgu vermeden önce, TNF- α 'nın yüksek olduğunun tespit edilmesi, olası bir periodontal hastalığın işareti olduğunu düşündürmektedir. Periodontitisli hastaların DOS'unda TNF- α seviyesini değerlendiren bir çalışmada, klinik periodontal ölçümlerle sitokin seviyesi arasında korelasyon olmadığı görülmüştür. Bu nedenle araştırmacılar, TNF- α 'yı erken (-pro) inflamatuvar belirteç olarak kabul etmişlerdir.⁴⁶

TNF- α , üretimi ve ortama salınımı LPS'nin stimülasyonuna bağlı olduğu için, etkin olmayan makrofajlar tarafından üretilemez veya depolanamaz. Etkinliği ve salınımı birçok hücrede gerçekleşebilmektedir. Biyolojik etkileri genel itibariyle aşağıdaki gibidir: IL-1 α ve β , IL-6, IL-8 gibi sitokinlerin ve MMP'lerin salınımını uyarır, osteoprotegrin (OPG) ve Nükleer Faktör Kappa Beta (NF- κ B) 'nin reseptör aktivatör faktörü gibi osteoklast farklılaşmasında rol oynar, kollajenaz salınımı için fibroblastları indükler, damar geçirgenliğini artırır, adezyon moleküllerinin üretimini artırır, ayrıca IL-1 ile sinerjik etki göstererek kemik rezorpsiyonunu etkiler.^{59, 60}

Erdemir ve ark.'nın yaptıkları araştırmada, sigara içen ve içmeyen bireylerde periodontal tedavi öncesi ve sonrası DOS TNF- α ve IL-6 değerleri incelenmiş ve gruplar arasında ve tedaviden 6 ay sonrasında fark gözlenmemiştir.⁶⁰

2.2.3. İnterlökin 1 (IL-1)

IL-1 α , IL-1 β ve IL-1 reseptör antagonistinden (IL-Ra) oluşan IL-1 ailesi immün cevap, enflamasyon ve doku yıkımını sağlayan ana sitokinlerindendir.⁶¹ Osteoklastları ve PGE₂ sentezini uyararak kemik rezorpsiyonuna neden olur ve yeni kemik yapımını engeller.⁶² IL-1, en etkin osteoklast aktive edici faktördür. Katabolik etki açısından IL-1 β 'nın IL-1 α 'ya göre alveol kemiği üzerinde 10-15 kat daha fazla etkili olduğu bildirilmiştir. Fakat hem IL-1 α , hem de IL-1 β periodontitisli bölgelerde sağlıklı ya da gingivitisli bölgelere göre fazla bulunmuştur.⁶² IL-1, proenflamatuvar sitokinlerin içinde öncü rol

üstlenmektedir. IL-1 salgılanmasını uyarayan etkenler; mikroorganizmalar, endotoksin ve ekzotoksinler gibi mikrobiyal ürünler ile konak hücreleridir. IL-1 salgılanmasını uyarayan konağa bağlı faktörler ise, C5a, koloni stimüle edici faktör, TNF- α , TGF- β ve IL-1'in kendisidir.^{49, 63}

DOS IL-1 β seviyesinin, insanlarda deneysel gingivitis ve maymunlarda deneysel periodontitis modelinde, 7-12 kat arttığı gösterilmiştir.^{64, 65} Periodontitisli ve sağlıklı bireylerin DOS IL-1 β , IL-8 ve IL-10 seviyelerinin araştırıldığı bir çalışmada; IL-1 β sağlıklı dişetinde varlığı saptanamamış iken, periodontitisli hastaların DOS'larında tespit edilmiş ve periodontal tedaviden 2 ay sonra azaldığı rapor edilmiştir.⁵³

Masada ve ark.⁵¹ ileri seviye periodontal hastalığı bulunan 15 bireyden aldıkları DOS örneklerinde, IL-1 β seviyesinin yüksek olduğunu rapor etmişler, periodontal dokulardan kemik yıkımına hızlandıracak seviyede IL-1 β salgılandığını ve bu molekülün periodontal doku yıkımını gösteren bir belirteç olabileceğini bildirmişlerdir.

2.2.4. İnterlökin 6 (IL-6)

IL-6, IL-1 ile TNF- α ' ya benzer immün ve inflamatuvar aktiviteler göstermektedir. T ve B lenfositleri, makrofajlar, monositler, fibroblastlar, osteoblastlar, keratinositler, endotel hücreleri, mezenşimal, kemik iliği stromal hücreler ve çeşitli tümör hücreleri tarafından üretilir. IL-6'nın üretimini IL-1, PGE₂ ve MMP'ler artırır. Lokal akut faz reaksiyonlarında önemli rol oynayan bir sitokindir.^{66, 67} IL-6, B lenfosit hücreleri için bir büyüme faktörü gibi rol oynayarak, onların antikor üreten plazma hücrelerine dönüşümünü sağlar. IL-6, T lenfosit hücre aktivasyonu ve farklılaşmasında, IL-2 ve IL-2 reseptör salımının uyarılmasında, hematopoeziste etki gösterir. IL-6'nın aynı zamanda TNF üretimini inhibe etmek, akut inflamatuvar cevabın sınırlandırılması, negatif feedback sağlamak gibi düzenleyici görevleri de vardır.^{68, 69} IL-6 seviyesi bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, neoplaziler, travma ve kronik inflamatuvar hastalık

durumunda artmaktadır.⁷⁰ Periodontal hastalıklarda enflamatuvar alanlarda artan IL-6 seviyesi, fibroblastların büyümesini inhibe ederek ve osteoklast sayısını artırarak aynı zamanda osteoblast alkalen fosfataz aktivitesini ve kollajen sentezini inhibe ederek kemik yıkımına neden olmaktadır. Kronik periodontitiste; IL-6 ve IL-1 kombinasyonunun sinerjik olarak in vitro kemik yıkımını arttırıcı etki gösterdiği düşünülmektedir.⁷¹ Aksine, IL-6, IL-1Ra ve TNF- α çözülebilir reseptörü indükleyerek, IL-1 ve TNF- α üretimini baskılayabilmektedir. Böylece periodontal hastalıklarda enflamatuvar alanlarda artan IL-6 seviyesi, fibroblastların büyümesini inhibe ederek, osteoklast sayısını arttırarak, osteoblast alkalen fosfataz aktivitesini ve kolajen sentezini inhibe ederek kemik yıkımına neden olmaktadır. IL-6, bu sitokinlerin proenflamatuvar etkilerinin dengelenmesinde büyük etkiye sahiptir.⁷² Yapılan klinik çalışmalarda, periodontitisli hastalarda tedavi sonrası DOS IL-6 seviyelerinde değişim olduğu bildirilmiştir.⁷³⁻⁷⁶

2.2.5. İnterlökin 10 (IL-10)

IL-10, Th₀, Th₁ ve Th₂ lenfosit hücreleri, B lenfosit hücreleri ve monosit/makrofajların aktivasyonu sonucu üretilen, doğal ve kazanılmış immün cevap üzerine önemli etkileri olan antiinflamatuvar bir sitokindir.⁷⁷ IL-10'un Antijen sunan hücreler ve lenfositler ilk hedefiyken, bağışıklık sistemi üzerine en büyük etkisi Th₁/Th₂ dengesini düzenleyerek Ig-E, Ig-A ve IgG üretiminde ve mukozal immünitede görev almasıdır.⁷⁸

IL-10, B lenfosit hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını uyararak bakteriyel toksinlerin etkisizleştirilmesinde rol oynar. Bununla birlikte IL-10 hücrel immün cevabın baskılanması için, proinflamatuvar sitokin üretimini ve monositlerin/makrofajların, dentritik hücrelerin antijen sunma kapasitelerini inhibe ederken, makrofaj ve monositlerin MHC sınıf II molekülü salınımını azaltır.^{79, 80}

IL-10'un kronik periodontitiste, Th₁ ve Th₂ arasındaki dengenin kontrolünde önemli rol oynadığı, dengeyi Th₂ yönünde kaydırıldığı ve sonuçta hastalık şiddetini azaltabileceği rapor edilmiştir. IL-10 eksikliğinin IL-1 üretimini arttırabileceği ve doku yıkımını şiddetlendirebileceği bildirilmiştir.⁸¹

Toker ve ark.⁸² agresif periodontitisli hastalarda tedavi öncesine göre sıg, orta ve derin ceplerde başlangıç periodontal tedaviden altı hafta sonra DOS IL-10 miktarında anlamlı değişme olmadığını bildirmişlerdir.

2.3. Matriks Metalloproteinazlar (MMP)

Matriks metalloproteinazlar, Ekstrasellüler Matriks (ESM) makromoleküllerinin ana proteinleri olan laminin, proteoglikan, fibronektin, intertisyel ve bazal membran kollajenleri yıkımını sağlayan proteolitik enzim ailesidir.⁸³ Matriks metalloproteinazlar yapısal ve fonksiyonel olarak en az altı gruba ayrılırlar. Bunlar:

- 1) Kollajenazlar (MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18)
- 2) Jelatinazlar (MMP-2, MMP-9)
- 3) Stromelisinler (MMP-3, MMP-10, MMP-11)
- 4) Membran tip (MT-MMP)
- 5) Diğerleri (MMP-20).

MMP'lerin çoğunun salınımı ve aktivitesi, fizyolojik özelliklerini koruyan dokularda çok azdır. MMP'lerin aktivasyonunu bazı hormonlar, büyüme faktörleri ve proenflamatuvar sitokinler arttırır. Bu enzimler, hücre hareketini ve göçünü yönlendiren kemotaktik sinyal oluşumu için bazal membranı komponentlerinden ayırır ve hücre yüzeyindeki adeziv moleküller ve kemoatraktanlar ile etkileşime girer.⁸⁴

MMP'ler konak cevabını yönlendiren enzimlerdir, çünkü sitokin, kemokin ve hücre yüzey reseptörleri gibi biyolojik aktif moleküllerin biyolojik aktivitelerini direkt olarak ya da bu moleküllerin inhibitörlerini inaktive ederek dolaylı yoldan etkiler.⁸⁵

2.3.1. MMP-9

Jelatinazlar, denatüre kollajenleri (jelatin), tip IV, V, VII ve X kollajeni, laminini, elastini ve fibronektini parçalayabilmektedirler. Jelatinaz A (MMP-2) ve Jelatinaz B (MMP-9) olmak üzere iki tipi vardır. MMP-2, daha çok fibronektin ve laminini yıkarken, MMP-9 ise daha çok tip IV ve tip V kollajene özgüdür.⁸⁶

Molekül ağırlığı 92 kDa olan MMP-9 TIMP-1 tarafından baskılanır ve PMNL tarafından salgınır.^{87, 88} Stromelisin-1 ve stromelisin-2 proteoglikanların kor proteinleri, tip IV ve tip V kollajen, fibronektin, denatüre tip I kollajen ve laminini içeren bir molekülü parçalayabilmektedirler. Stromelisin-3 enzimi meme kanseri hücrelerinden ve embriyonik fibroblastlar tarafından üretilmektedir ve tam fonksiyonel bir metalloproteinazdır. Matrilisin fibronektin, laminin ve jelatini içeren moleküllerin yıkımına neden olur.⁸⁹

MMP-9 üretimi ve aktivasyonunun; periodontitis, periimplantitis, perikoronitis ve malign tümörlerde olduğu gibi pek çok inflamatuvar ve malign hastalıkta ortaya çıktığı birçok çalışmada bildirilmiştir.⁹⁰⁻⁹⁵

MMP-9 salınımı ve aktivasyonu, TNF- α , IL-1, IFN- γ , IL-2 gibi inflamatuvar sitokinler tarafından uyarılırken; IL-10 ve IL-4 ile baskılanmaktadır.^{90, 94, 95} Sonuç olarak, MMP-9'un periodontal dokularda sitokinler arası denge; doku bütünlüğünün sürdürülmesinde önemli rolü vardır.^{93, 96}

Yapılan birçok araştırmada da periodontal hastalık varlığında DOS'taki kollajenaz ve jelatinazların (MMP-2, MMP-9) seviyelerinin arttığı bildirilmektedir.⁹⁷⁻¹⁰³

2.4. Dişeti Oluğu Sıvısı

Dişeti oluğu sıvısı (DOS), dişleri çevreleyen gingival sulkus ya da periodontal cep içerisinde bulunan, enflamatuvar bir eksuda olarak tanımlanabilen biyolojik bir sıvıdır.^{104, 105} DOS'un aslında bir kan ultrafiltratı olarak oluştuğu buna ek olarak doku

yıkım ürünleri, enflamatuar mediyatörler ve plak bakterilerine karşı oluşturulan antikorları da içeren bir sıvı olduğu rapor edilmiştir.^{106, 107} DOS akışı bakteri birikimini azaltan mekanik bir faktör olarak, dişeti oluğundaki bakterilerin kontrolünde önemli mekanizmalardan biridir.^{108, 109}

DOS'a yönelik yapılan ilk çalışmalarda, birleşim ve sulkus epitelinin altındaki marjinal kapillerlerin damar geçirgenliğinin artması ile DOS'un oluştuğu ileri sürülmüştür. Fakat interstisiyel sıvının dişeti enflamasyonu olmadan da dişeti oluğuna geçişinin saptanması sonrası, Alfano¹¹⁰ ve Pashley¹¹¹ DOS oluşum teorileri literatüre kazandırılmıştır. Alfano, ozmotik basıncın oluşumu ve klasik iltihabın başlangıcı olarak iki farklı mekanizma sonucu DOS'un oluştuğunu ileri sürmüştür. Bu teoride, subgingival plakta mevcut olan makromoleküllerin, hücreler ve bazal membran arasında birikmesi sonucu basınç artışı gerçekleşir ve basıncın artması ozmotik basıncın değişimine neden olarak sıvı akışını başlatabilir. Ortamda mevcut bulunan plak makromoleküllerinin, antijenik, toksik ve enzimatik aktivitesi nedeniyle alanda klasik iltihabi eksuda oluşur. Ardından mevcut sıvının içeriği de değişir.¹¹⁰

Pashley'in teorisine göre ise, DOS'un varlığı, sıvının kapillerlerden dokuya geçişi ve interstisiyel sıvının dişeti lenfatikleri yoluyla ortamdaki uzaklaşması arasındaki dengeyle ilişkilidir. Bu denge sıvının osmotik ve hidrostatik basıncı ile kapiller lenfatik tarafından sağlanmaktadır. Bununla birlikte, sulkus epiteli ve birleşim epiteli tarafından oluşturulan filtrasyon katsayısı ile hücreler arası sıvının ve DOS'un sıvı basınç farklılıkları ile de ilgilidir.¹¹¹

DOS, saatte birkaç mikrolitre gibi küçük bir akış hızına sahiptir. Bu akışın sağlıklı bireylerde sıg cepler için 3-8 µl/saat, orta seviyede etkilenmiş periodontal hastalıklı ceplerde 20 µl/saat ve ileri seviyede etkilenmiş periodontal hastalıklı ceplerde 137 µl/saat olduğu gözlenmiştir.¹⁰⁷

DOS'un içeriği; hücrenel elemanlar, elektrolitler, organik içerikler, bakteriyel ve metabolik ürünler, endotoksinler, antibakteriyel faktörler, konak ve bakteri kaynaklı enzimler ve enzim inhibitörleri, immünglobülinler, sitokinler ve diğer bileşenlerden oluşmaktadır.^{105, 108, 112}

Periodontal hastalığın belirlenmesinde önemli rol oynayan konak enflamatuar ürün ve mediatörleri; PGE₂, sitokinler, antibakteriyel antikorlar, total protein ve akut faz proteinleri gibi pek çok belirteci bulundurduğu bilinmektedir.¹¹³ DOS'taki antikorların varlığı periodontal hastalığın teşhisi ve sınıflamasında ve tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde yararlı olabileceği düşünölmektedir.¹⁰⁸

Dişeti oluğu sıvısının toplanması ve analizi alan-spesifik olarak periodonsiyumun patofizyolojik durumunu değerlendirmek için non-invaziv bir yöntemdir. İnsan periodontal dokularından toplanan DOS'un küçük hacimleri sadece mikrolitre miktarlarındaki moleküllerin spesifik ve sensitif deneylerinde kullanılabilir.¹¹²

Dişeti oluğu sıvısını örneklemek için kapiller tüpler-mikropipetler, sulkus içi yıkama (gingival washing), modifiye sulkus içi yıkama, kağıt şeritler gibi yöntemler uygulanmaktadır. En çok tavsiye edilen yöntem kağıt şerit kullanımındır. Bunlar sulkus içinde bir direnç hissedilinceye kadar (oluk içi yöntem) veya sulkus girişinde (oluk dışı yöntem) yerleştirilerek kullanılmaktadır.¹¹⁴

DOS hacminin tespit edilmesi için kağıt şeritlerin ninhidrin ile boyanmasının ardından mikroskop ile direk incelenmesi,^{115, 116} şeritlerin tartılması,¹¹⁷ ya da hacmin Periotron cihazı ile ölçülmesi¹¹⁸ gibi teknikler mevcuttur.

Periotron; DOS hacminin ölçümünü sağlayan, çeşitli emici kağıt şeritler kullanmasına izin verecek şekilde tasarlanmış mikro nem ölçen elektronik bir cihazdır. Periotron, emici kağıt şeridin yerleştirilmesi ve çıkarılması için açıp kapanabilen biri

pozitif, diğeri negatif yüklü alt ve üst iki iletkeni mevcuttur ve iletkenler arasındaki akım ile elektriksel kapasitansı ölçme prensibi ile çalışmaktadır.¹¹⁹

2.5. Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi

2.5.1. BPT ve BPT' yi Destekleyen Ajanlar

BPT, kapsamlı plak kontrolünün öğretilmesi, diş taşlarının ve mikrobiyal plağın tamamen uzaklaştırılması, uygun olmayan restorasyonların düzeltilmesi ve çürük lezyonların tedavisini içermektedir.¹²⁰⁻¹²⁴ Günümüze kadar yapılan bilimsel araştırmalarda, periodontitisli bireylerde BPT sonrası SCD, KAS, Gİ ve SK değerlerinde düzelme olduğu bildirilmiştir.¹²⁵⁻¹²⁹ BPT dış yüzeyi temizliği (DYT), kök yüzeyi düzleştirilmesi (KYD) ve oral hijyen alışkanlığının kazandırılması ve ilave uygulanan kemoterapotik ile bakteriyel biyofilmi azaltmayı veya yok etmeyi hedefler.¹³⁰⁻¹³²

Periodontal hastalıklarda, çok köklü dişler, furkasyon alanları, kök konkavimleri, interproksimal bölgeler ve derin ceplerin mevcudiyetinde periodontal enstrümantasyonun güçleşmesiyle, *A.actinomycescomitans*, *P.gingivalis*, *F.nucleatum* ve *T.denticola* gibi periodontal yumuşak ve sert dokulara invaze olabilme yeteneğine sahip subgingival periodontopatojenlerin cerrahi olmayan periodontal tedavi ile eliminasyonu güçleştiğinden, cerrahi olmayan periodontal tedaviye ilave olarak lokal ve sistemik antibiyotikler, topikal antiseptikler gibi anti-infektif ajanlar kullanılmaktadır. BPT' ye ilave olarak antimikrobiyal yardımcı tedavi uygulamaları, BPT sonrası cep içinde kalan mikroorganizmaları elimine ettiği ve tek başına BPT'den daha başarılı olduğu rapor edilmiştir.^{133, 134}

Cerrahi olmayan periodontal tedaviye ilave uygulamalardan biri de ozon tedavisidir ve periodontal hastalığın tüm tedavi fazlarında etkili olduğu bilinmektedir. Diş hekimliğinde geniş kullanım alanına sahip olan ozon tedavisi, periodontal hastalıkta

etken olan patojen mikroorganizmaların yok edilmesinde etkili olduğu in-vitro ve in-vivo araştırmalar ile gösterilmiştir.¹³⁵⁻¹³⁸

2.6. Ozon

Ozon (O_3), 3 oksijen atomunun birbirine kovalent bağ ile bağlanması sonucu oluşan, doğada gaz halinde bulunan, endotermik ve termodinamik olarak oldukça kararsız bir oksijen bileşiğidir.¹³⁹ Kısa yarılanma ömrü ile basınç ve ısı gibi çevre koşullarına bağlı olarak kısa süre içinde moleküler oksijenden atomik oksijene dönüşür. Ozon gazı, atmosferin üst tabakalarında ekolojik açıdan 2 önemli tabakada mevcuttur. Bu tabakalardan biri troposfer diğerı ise stratosferdir.¹⁴⁰ Stratosfer tabakasında ozon molekülü ve ozon atomu güneş ışınlarının etkisiyle bir taraftan zararlı ultraviyole (UV) ışınlarının çoğunu soğuran bir bariyer olan ozon tabakasını oluştururken, diğer taraftan ozon güneş ışınlarının etkisi ile parçalanmaktadır.¹⁴¹ Yüksek enerjiye sahip güneş ışınlarının normal oksijen moleküllerine (O_2) çarpmasıyla ortaya çıkan oksijen atomlarının (O^*) diğer oksijen molekülleriyle (O_2) birleşmesi sonucunda ozon (O_3) gazı meydana gelir.¹³⁹

Ozonun metabolizmadaki etkisi, konsantrasyonuna ve kullanıldığı doza bağlı olarak değişmektedir.

Günümüze kadar yapılan araştırmalarda ozonun tespit edilmiş olan özellikleri ve etkileri řu şekilde sıralanabilir;

1. Antibakteriyel, antiviral ve antifungal etki,
2. Sistemik homoestazisin sağlanması,
3. Hemoglobinin oksijen taşıma kapasitesini arttırıcı etki,
4. Pro ve anti-oksidan sistemlerin optimizasyonu,
5. Mikrodolaşım ve periferik kan dolaşımının restorasyonu,
6. Kanın pıhtılaşmasının azaltılması,

7. Hematopoezin stimülasyonu,
8. Karbonhidrat, protein ve lipid gibi biyolojik substratların, metabolizmalarının optimizasyonu (biyoenerjetik, biosentetik etki),
9. Biyolojik aktif maddelerin üretiminin aktivasyonu,
10. İmmünomodülatör etki (küçük dozlarda immünoestimülasyon, yüksek dozlarda immünosüpresyon),
11. Analjezik etki,
12. Detoksifikasyon olarak sayılabilir.¹⁴²

2.6.1. Yapay Ozon Üretimi ve Ozon Jeneratörleri:

Yapay ozon; ozon jeneratörleri ile oksijen molekülünün (O_2) parçalanmasını sağlayarak elde edilen oksijen atomlarından birini (O) başka bir oksijen molekülüne (O_2) bağlayarak elde edilir.

Ozon jeneratörlerinin çalışma prensipleri 3 ana yöntemle ilgili olarak gerçekleştirilmektedir.

2.6.1.1. UV Ozon Jeneratörleri:

220 nm'den kısa dalga boylu ışın veren UV lambalarının etrafından hava geçirilmesiyle elde edilen ozon gazı (O_3); gıdaları korumak, otel ve hastanelerde ortam havasını temizlemek için kullanılmaktadır. UV jeneratörlerinden elde edilen ozon konsantrasyonu, arıtma işlemleri veya su dezenfeksiyonu uygulamak için yeterli değildir.¹⁴³

2.6.1.2. Düşük Frekans Ozon Jeneratörleri:

Yüksek frekans ozon jeneratörlerine göre aynı miktar ozon gazı üretimi için 2 kat daha fazla elektrik enerjisi tüketmektedir.¹⁴⁴

2.6.1.3. Corona-Discharge Esaslı Ozon Jeneratörleri:

Sabit elektrik akımı vererek kinetik enerji ile elektronları hızlandırarak oksijen molekülündeki oksijen-oksijen bağımlı parçalama prensibiyle çalışır. Bu işlem sonucunda açığa çıkan oksijen atomu; ozon gazını oluşturmak üzere oksijen molekülü ile reaksiyona girer. *Corona-discharge* teknolojisi ile yüksek konsantrasyonda ve daha fazla ozon gazı üretimi sağlanabilmektedir. Tıp ve diş hekimliğinde en çok önerilen jeneratör tipidir.¹⁴⁴ Ozonytron® (Mymed, Almanya), Healozone® (Curozone® ABD, Kavo Almanya), Cytozon® (Hasnter, Almanya), Ozi-Cure® (Centurion, Güney Afrika), Neo ozone Water-S® (Korm electronics Japonya), Sander Ozonizer® (Eltze, Almanya) diş hekimliğinde sıklıkla kullanılan ozon jeneratörleridir.

2.6.2. Medikal Ozon Ve Etki Mekanizması

Doğal ozon oluşumunda gerekli olan elektrik akımı, çok yüksek enerjiye ihtiyaç duyar. Bu nedenle ozon, sentetik olarak da üretilebilir. Bu amaçla, medikal ozon jeneratörlerinden yararlanılarak µg seviyesinde medikal ozon elde edilir.¹⁴⁵ Medikal ozon, saf oksijen ile ozonun belirli oranlarda (%99,95-%95 O₂; %0,05-%5 O₃) karıştırılarak, bu karışımın değişik yöntemlerle hastaya uygulanmasını içeren bir tedavi şeklidir. Medikal ozon, çok yüksek oksidasyon gücüne sahip olduğundan medikal alanda “aktif oksijen” olarak tanınmaktadır.¹⁴⁵⁻¹⁴⁷ Medikal ozon oksijenden çok daha reaktif olup, oksijenin mitokondriyal solunumda meydana getirdiği radikal oksijen türlerini oluşturur. Medikal ozonun uygun dozlarda kullanımı kan dolaşımını artırır, eritrositler, lökositler, plateletler gibi kan hücreleri ile etkileşime girer, nitrikoksit (NO) ve karbonmonoksit (CO) üzerinden ve de eritrosit içindeki 2,3-difosfogliseratı (2,3-DPG) arttırarak hemoglobinin oksijen taşıma kapasitesini düzenler, iskemik dokulara oksijen ulaşımını kolaylaştırır, genel metabolizmayı düzenler, immün sistemi aktive ederek büyüme faktörlerinin salınımını artırır, antioksidan enzimlerin salınımını

arttırarak serbest radikal seviyelerini düşürür. Nöro-endokrin sistem stimülasyonu ile kişinin kendini daha iyi hissetmesini sağlar. Topikal kullanımlarda mükemmel bir dezenfektandır; akut ve geç yan etkileri yoktur.^{146, 148}

Hücre kültürü üzerine yapılan bir araştırmada, ozon değişen konsantrasyonlarda hücre proliferasyonu, metabolizması, motilitesi ve aynı zamanda hücre ölümü ile sonuçlanan radikal oksijen türlerinin sentezini başlatabildiği bildirilmiştir.¹⁴⁹ Ozon vücutta plazma, lenf sıvısı veya serum içerisindeki çeşitli biyomoleküller ile hemen reaksiyona girer ve tepkime sonucu moleküler oksijen ve reaktif oksijen atomuna dönüşür. Ozonun kendisi toksik madde olmayıp etkisini ortaya çıkardığı radikaller üzerinden sağlar, vücut içerisinde çoklu doymamış yağ asitleri ile kısa zaman içerisinde reaksiyona girer ve hidrojen peroksidi (H_2O_2) oluşturur.¹⁵⁰ H_2O_2 kendisi serbest radikal olmamasına rağmen, biyolojik zarlara nüfuz edebilmesi ve daha reaktif oksijen türlerinin yapım aşamasında etkisi olduğundan önemlidir. Diğer bir önemli görevi ise, hücre içi sinyal molekülü olarak görev almasıdır. H_2O_2 sitokin salınımını artıran önemli faktörlerden biridir.¹⁵¹

Medikal ozon tedavisinin özellikle enflamatuar süreçte önemli rol oynadığı ve immün sistem üzerine olumlu etkilerinin olduğu bilinmektedir. Medikal ozon uygulamalarının yara iyileşmesi, iskemik ve enfeksiyöz hastalıklarda yapılan vaka kontrol çalışmalarında olumlu etkiler gösterdiği bildirilmiştir.¹⁵²

Yapılan bilimsel araştırmalarda ozon uygulandıktan 72-96 saat sonrası insan kanında interferon- γ (IFN- γ) ile TNF- α üretimini arttırdığı ve hücre mitogenezini uyardığı rapor edilmiştir.^{153, 154}

2.6.3. Diş Hekimliğinde Ozon Kullanımı

Diş hekimliğinde ozon, ilk olarak 1933 yılında Zürihli diş hekimi Fisch E. tarafından; enfekte yara yüzeylerini ve kronik periodontal enfeksiyonları tedavi etmek

amacıyla sıvı formunda kullanılmıştır. Fisch, ozonu Alman cerrah Dr. Erwin Payr'ı tedavi etmek amacıyla kullanmıştır. Dr. Erwin Payr ozon ile tanıştıktan sonra kendi operasyonlarında kullanmaya başlamış ve elde ettiği bulguları 1935 yılında Berlin'de 59. Alman Cerrahi Birliği Kongresi'nde sunmuştur.¹⁴²

Medikal ozon diş hekimliğinde gaz, sıvı ve yağ şeklinde 3 ayrı formda kullanılmaktadır.

- **Gaz Ozon:** Gaz ozon, %95 ile % 99.5 oranlarında değişen saf oksijen O₂ gazı ve %5 ile %0.05 oranlarında değişen ozon gazı karışımından oluşmaktadır. Ozon stabilitesi az olduğu için karışım oluşturulduktan sonra derhal kullanmak gereklidir. Uzun süre saklamak zordur.¹⁴⁶ Gaz ozon, sıvı formuna göre daha güçlü antimikrobiyal etki gösterir ve dental dezenfektan olarak 3 dakikalık kullanımı yeterli olmaktadır.¹⁵⁵ Gaz ozonun en büyük avantajı, organik bileşenler ile temas ettikten kısa bir süre sonra bozulması ve sitotoksitesinin düşük olmasıdır.¹⁵⁶ Gaz ozon kullanımı esnasında solunum sisteminde toksik etkilere neden olmaması amacıyla mutlaka aspirasyon işlemi yapılmalıdır.¹⁵⁷

- **Sıvı Ozon (Ozonize Su):** Ozonlama için bir veya iki kere distile edilmiş su kullanılması önerilir. Ozonun yarılanma ömrü distile su içinde, oda ısısında yaklaşık yarım saat olup, ozonlu su elde edilmesinden hemen sonra kullanılmalıdır.¹⁵⁸ Ozonun bozunma hızı solüsyonun hidrojen içeriğine bağlıdır, asit ortamda ozon/oksijen gaz karışımı daha stabil iken, alkali ortamda ozonun parçalanması çok daha hızlıdır. Daha uzun süre ozonlama su içinde çözünmesi ozonun miktarını artırmaz. Ozon, oksijene oranla suda yaklaşık 10 kat daha fazla çözünür.¹⁴²

Ozonize su, lokal oksijenin arttırılmasında, kanama kontrolünde, enfeksiyonun önlenmesinde ve diş çekimini takiben veya cerrahi müdahale sonrasında, ağız

hastalıklarında, yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde, cerrahi işlemler öncesinde oral kavitenin dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır.¹⁵⁸

- **Ozonize Yağ:** Antibiyotiklerin hatalı ya da bilinçsiz kullanımı sonucu gelişen bakteriyel direnç nedeniyle esansiyel yağlar içeren antimikrobiyallerin kullanımı öne sürülmüştür.¹⁵⁹ Ozonize yağ kullanımının esas amacı uygulanan bölgeye kolay ulaşması nedeniyle yüksek etkinlik göstermesidir.¹⁶⁰ Ozonize yağ kullanıldığında epitel hücrelerine hasar verilmeksizin, etkin patojen mikroorganizma direkt olarak öldürülmektedir. Ozonun yağ formu pH'ı stabil kalmak koşulu ile -10 ile +8 °C arasında 1 yıldan fazla, oda sıcaklığında ise 6 aydan daha fazla stabil şekilde muhafaza edilebilir. Ancak bu sürenin sonunda antimikrobiyal aktivitesi azaldığı bildirilmiştir.¹⁶⁰

Diş hekimliğinde ozon, restoratif diş hekimliği ve endodonti, protetik diş tedavisi, ağız diş ve çene cerrahisi ve periodontoloji alanında kullanılmaktadır.¹⁶¹⁻¹⁶⁵

2.6.3.1. Periodontolojide Ozon Kullanımı

Periodontal tedavide BPT'yi desteklemek amacıyla günümüze kadar pek çok yardımcı ajan kullanılmış, ancak periodontolojide ozon kullanımına olan ilgi son yıllarda artarak devam etmektedir.

Yapılan güncel araştırmalarda BPT'ye ilaveten uygulanan medikal ozon, periodontal hastalıklı bireylerde subgingival periodontal patojenlerin eliminasyonunda ve klinik periodontal ölçümlerde iyileşmede tartışmalı sonuçlara rastlanmaktadır.^{166, 167, 168, 169}

Huth ve ark.¹³⁶ yaptıkları in vitro çalışmada gaz ozon, sıvı ozon ve %2'lik CHX'in benzer antibakteriyel etki gösterdiğini, gaz ozonun yüksek konsantrasyonlarda periodontal patojenlere karşı etkili olduğunu ve BPT'ye destek olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Huth ve ark. yaptığı diğer bir araştırmada, ozonize suyun hücre biyoyumluluğuna sahip olduğunu, CHX ve gaz ozona oranla zayıf

toksisite gösterdiğini ve aynı zamanda direnç gelişiminin görülmediğini de rapor etmişlerdir.¹⁵⁷

Nagayoshi ve ark.'nın¹⁷⁰ yaptığı çalışmada ozonize suyun dental plak içerisindeki gram (+) ve gram (-) oral mikroorganizmaları ve *Candida* türlerini 10 sn. içerisinde inaktive ettiğini bildirmişlerdir.

Sechi ve ark.¹⁶⁰ yaptıkları in vitro çalışmada; ozonize yağının *Staphylococci*, *Streptococci*, *Enterococci*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli* ve *Mycobacteria* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini araştırmışlar, ozonize yağın tüm türler üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Medikal ozon uygulamasının periodontal dokular üzerindeki toksik etkilerini inceleyen bir araştırmada, Ebensberger ve ark. çekilmiş 3. Molar dişler üzerine uygulanan ozonize suyun kök yüzeyindeki periodontal ligament hücrelerinin proliferasyonu üzerine etkilerini araştırmışlar ve ozonize suyun periodontal ligament hücreleri üzerinde toksik bir etkiye neden olmadığını bildirmişlerdir.¹⁷¹ Medikal ozon fizyolojik mekanizmayı aktive etmek için yeterli miktarda olmalıdır, ancak hücre içi antioksidan sistemi baskılanması ve hasar oluşmaması için aşırı seviyelerde de olmamalıdır. Bu nedenle medikal ozonun kullanımında aşırı veya yetersiz doz sağlığa zararlı olabilir. Bununla birlikte, çok düşük ozon dozu plazma antioksidan sistem tarafından tamamen nötralize olur ve sadece plasebo etki yapar. Fakat medikal ozon uygulaması sonrası ortaya çıkabilen doku hasarı, uzun süre kronik oksidatif strese maruz kalan diyabet, ateroskleroz ve yaşlılık gibi durumlarda meydana gelebilen doku hasarından daha az olduğu bildirilmiştir.¹⁷²

BPT'ye ilaveten uygulanan gaz ozonun periodontal klinik ölçümler ve periodontal patojenlerin eliminasyonu üzerindeki olumlu etkilerini bildiren in-vivo ve in-vitro araştırmalar bulunmaktadır. ^{135, 137, 138, 162, 173, 174}

Yılmaz ve ark.^{135, 173} yapmış oldukları tez çalışmasından literatüre kazandırdıkları bilimsel makalede, KP'li bireyler üzerinde BPT'ye ilaveten ozon gazının klinik ve antimikrobiyal etkilerini araştırmışlar, mikrobiyal parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanamamışken, KAS ve SCD'yi içeren klinik periodontal ölçümlerde anlamlı düzelme olduğunu rapor etmişlerdir.

Bektaş¹⁷⁴ yapmış olduğu tez çalışmasında, KP'li hastalarda BPT'ye ilaveten topikal gaz ozon kullanımının etkinliğini klinik ve mikrobiyolojik açıdan değerlendirmiş, SK, SCD ve KAS'ı içeren klinik periodontal ölçümlerde azalma sağlandığı ve total bakteri sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğunu bildirmiştir.

Muller ve ark.¹⁶² oral biyofilm üzerinde gaz ozon ve fotodinamik terapinin etkinliğini değerlendirdiği in vitro çalışmada, oral biyofilm bakterilerin CFU (Colony-Forming Units) ortalamalarında ozon ve fotodinamik terapi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir.

Gerspach-Hauser ve ark.¹³⁷ yapmış oldukları in vitro çalışmada peri-implantitis etkeni olan mikroorganizmalardan *P.gingivalis* ve *S.sanguinis* üzerine gaz ozonun antimikrobiyal etkinliğini araştırmışlar ve gaz ozonun bu mikroorganizmaları elimine ettiğini tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Eick ve ark.¹³⁸'nın yapmış oldukları diğer bir in vitro araştırmada, *P.gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, Gr (+) ve diğer Gr (-) periodontopatojen mikroorganizmalar üzerine gaz ozonun etkilerini incelemişler ve özellikle gaz ozonun *P.gingivalis* eliminasyonunda spesifik olarak etkili olduğunu gözlemlemişlerdir.

Periodontal hastalıklarda medikal ozon tedavisinin olası faydaları ve bu konuyla ilgili olarak yapılan güncel çalışmaların ışığında; gaz ozon tedavisi ile periodontal doku yıkımının engellenebilirliğini ve bu etkiyi enflamatuvar parametrelerin seviyelerindeki

değişimler ile tespit edebilme hipotezinden hareket ederek, çalışmamızda kronik periodontitisli bireylerde BPT ve ilave gaz ozon uygulamalarının DOS ve serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyeleri üzerindeki etkilerinin araştırılması planlanmıştır.

Bu çalışmanın amacı;

1. DOS ve serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinin gaz ozon tedavisi sonrası periodontitisin şiddetini ve klinik tabloyu etkileyip etkilemediğini değerlendirmek,

2. DOS ve serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinin BPT sonrası periodontitisin şiddetini ve klinik tabloyu etkileyip etkilemediğini değerlendirmek,

3. DOS ve serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinin klinik periodontal ölçümler ile korelasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, kronik periodontitisli bireyler üzerinde yürütülmüştür. Çalışmaya başlamadan önce Bilimsel Araştırma Projesi hazırlanarak, Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine sunulmuştur ve projemiz ilgili birim tarafından desteklenmiştir (BAP-2014/160). Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı Etik Kurulu tarafından 13.10.2014 tarih ve 24/2014 numara ile onaylanmıştır. (EK.2)

3.1. Hasta Seçimi

Araştırmada yer alan bireyler, periodontal şikayetleri nedeniyle Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Kliniği'ne başvuran, klinik ve radyografik bulgularına göre KP tanısı konulan 30-60 yaşları arasındaki sistemik olarak sağlıklı gönüllü bireyler arasından cinsiyet ayrımı yapılmaksızın seçildi. Çalışma popülasyonunun seçimi aşağıdaki kriterlere göre yapıldı:

1. Hastaların herhangi bir sistemik hastalık ve durumunun olmaması,
2. Hastaların sürekli herhangi bir ilaç kullanıyor olmaması
3. Hastaların herhangi bir madde bağımlısı olmaması ve sigara kullanmaması,
4. Hastaların son 1 yıl içinde periodontal tedavi görmemiş olması.
5. Hastaların akut ağrısı (pulpitise veya apikal apse) olmaması,
6. Hastaların ağızında en az 20 diş bulunması,
7. Her bir yarım çenede en az 2 dişte SCD ≥ 5 mm olması,
8. DOS örneği alınacak dişlerde çürük veya restorasyon olmaması,

Hasta seçim kriterlerine uygunluk gösteren hastalara herhangi bir işlem yapılmadan önce sahip olduğu periodontal durum, ağız hijyeni, uygulanacak tedaviler,

alınacak kan ve DOS örnekleri hakkında detaylı bilgi verilerek çalışma planı anlatıldı, her bir hastadan Bilgilendirilmiş Onam Formu alındı. (EK.4)

3.1. Güç Analizi

Örnek sayısı, $\alpha=0.05$ ve güç $(1-\beta)=\%85$ değerleri dikkate alınarak hesaplanmıştır. Değişkenlik değeri için ($\sigma=SD$), klinik ataşman kazancında 0.05 mm'lik değişim kullanılmıştır. Klinik olarak kabul edilen anlamlı en düşük değer (δ) 0.5 mm olarak dikkate alınmıştır. Bu verilere dayanarak, bu çalışmayı yürütmek için gerekli minimum hasta sayısı her grup için 22 olarak hesaplandı.¹⁷⁵

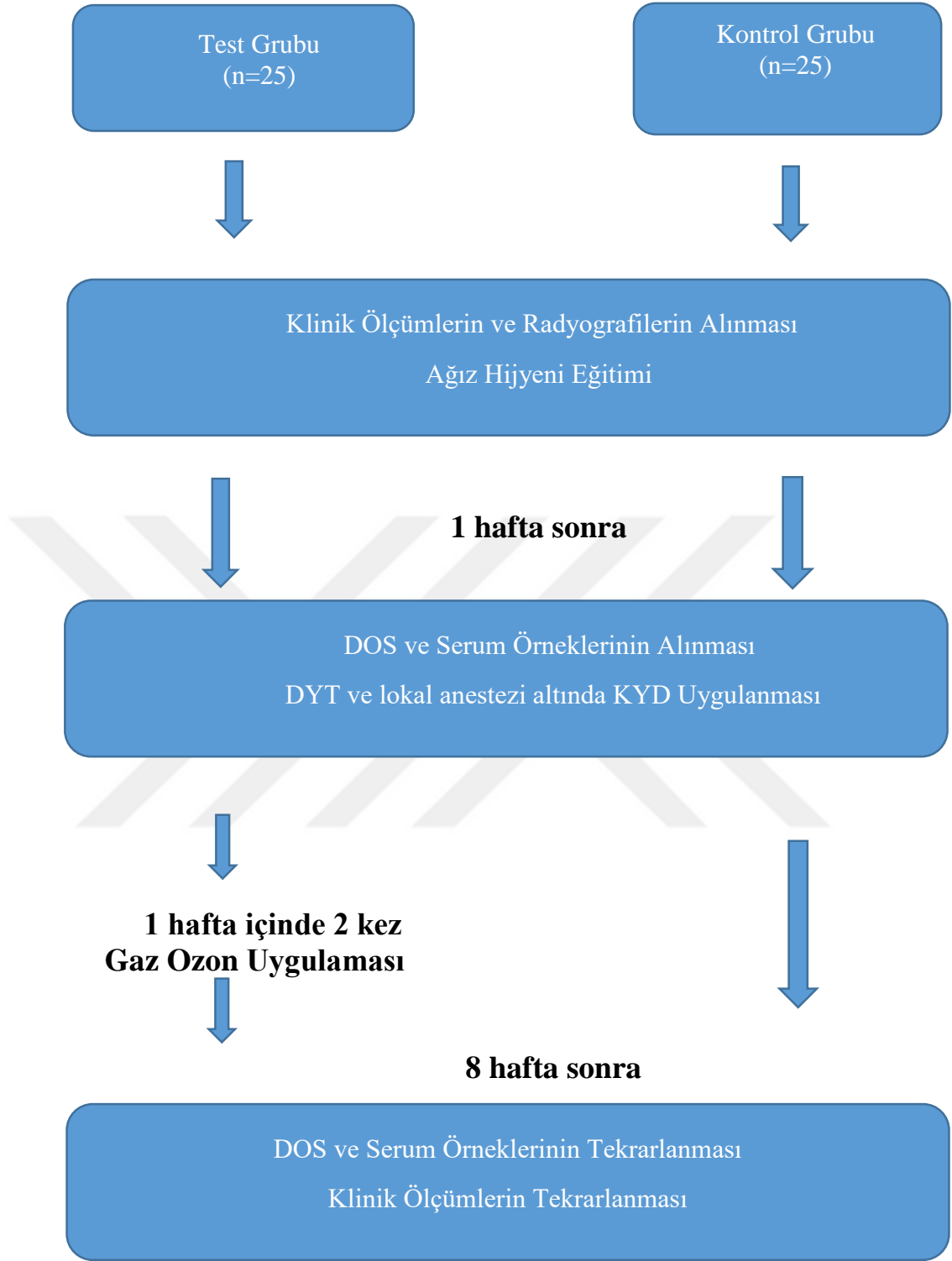
3.2. Çalışma Grupları ve Planı

Çalışmanın başlangıcında, tüm bireylerde periodontal klinik ölçümler yapıldı. BPT'den önce, diş fırçası ve diş ipi ve/veya arayüz fırçası kullanımını kapsayan ağız hijyeni eğitimi (AHE) verilen hastalar 1 hafta sonra kontrole çağrıldı ve DOS ve serum örnekleri alındı. Yeterli seviyede AHE sağlayabilen toplam 50 hasta, rastgele 25'er kişilik 2 gruba ayrıldı.

1. Test Grubu: Hastalara tüm ağız diş yüzey temizliği (DYT), lokal anestezi altında kök yüzey düzleştirilmesi (KYD) ve periodontal cep içerisine gaz ozon 3 gün arayla 2 defa uygulandı.

2. Kontrol Grubu: Yalnızca tüm ağız DYT ve KYD işlemi uygulandı. Her iki grup için BPT'den önce ve BPT'den 8 hafta sonra DOS ve serum örnekleme işlemi ve klinik periodontal ölçümler elde edildi.

Araştırmaya dahil edilen hastaların periodontal tedavileri ve ozon uygulamaları tek bir hekim tarafından yapıldı.



Şekil 3.1. Çalışma Planı

3.3. Klinik Ölçümler

3.3.1. Plak İndeksi (PI) (Silness& Loe, 1964) ¹⁷⁶

Dişler pamuk tamponlarla izole edilerek, hava ile kurutulduktan sonra, dişler üzerindeki MDP boyanmadan gözle ve muayene sondu ile incelendi; meziyo-bukkal, bukkal, lingual, disto-bukkal olmak üzere toplam 4 yüzeyine 0-3 arasında indeks değerleri verildi.

Plak indeksine göre:

0- Gözle bakıldığında ve sond ile muayene edildiğinde dişeti kenarında MDP yoktur.

1- Dişeti kenarında MDP gözle zor seçilirken sadece sond ile muayenede sondanın ucunda MDP gözlenmektedir.

2- Dişeti bölgesinde gözle görülebilen ince ve orta seviyede MDP vardır, interdental bölge tamamen dolmamıştır.

3- Dişeti kenarında, dişeti oluğu içerisinde ve komşu diş yüzeyinde fazla miktarda MDP vardır, interdental bölge tamamen dolmuştur.

3.3.2. Gingival İndeks (GI) (Loe&Silness, 1963) ¹⁷⁷

0: Sağlıklı Dişeti

1: Hafif iltihap, renkte hafif değişiklik, hafif ödem, sonda ile serbest dişeti kenarına dokunmada kanama olmuyor.

2: Orta derecede iltihap, kırmızılık, ödem ve parlaklık, sonda ile serbest dişetine dokunmada kanama var.

3: Şiddetli iltihap, belirgin kırmızılık ve ödem, ülser, dişeti kenarında kendi kendine kanamaya eğilim var.

3.3.3. Sondalanabilir Cep Derinliği (SCD)

Williams periodontal sond yardımıyla dişeti kenarı ile sulkus/cep tabanı arası mesafe, vestibül ve palatinalde, mezial, orta ve distal olmak üzere, dişin altı noktasından ölçüldü. Ölçüm esnasında sondun, dişin uzun aksına paralel olmasına dikkat edildi. Dişin 6 noktasından ölçülen değerler toplanıp, 6'ya bölünerek dişe ait ortalama SCD hesaplandı. Tüm dişlerdeki ortalama SCD toplanıp, diş sayısına bölünerek bireye ait ortalama SCD hesaplandı.

3.3.4. Sondalamada Kanama (SK) (Ainamo & Bay)¹⁷⁸

Her dişin vestibül, lingual, mezial ve distal yüzeylerinde hafif uygulanan bir sondalamayı takiben on saniye süresince (-) veya (+) skoru verildi. Her diş için verilen skorlar toplanıp diş sayısına bölünerek tüm ağız için sondlamada kanama yüzdesi belirlendi.

(-) : Sondlamada kanama yok.

(+) : Sondlamada kanama var.

3.3.5. Klinik Ataşman Seviyesi (KAS)

Williams periodontal sond kullanılarak mine-sement sınırından sulkus/cep tabanına olan mesafe, vestibul ve palatinalde, mezial, orta ve distal olmak üzere, dişin 6 noktasından milimetrik olarak ölçüldü. Dişin 6 noktasından ölçülen değerler toplanıp, 6'ya bölünerek dişe ait ortalama KAS hesaplandı. Tüm dişlerdeki ortalama KAS toplanıp, diş sayısına bölünerek bireye ait ortalama KAS hesaplandı.

3.4. Radyografik Değerlendirme

Doğru teşhisi koyabilmek için, klinik periodontal muayeneyi takiben tüm bireylerden ortopantomograf ve periapikal röntgenler alındı. Radyografik olarak kemik kaybı var veya yok olarak değerlendirildi.

3.5. Örneklerin Toplanması ve Klinik İşlemler

3.5.1. DOS Örneklerinin Elde Edilmesi

Hastaların mevcut periodontal durumlarını etkilememek amacıyla, DOS örneklerinin alımı öncesi hastalara herhangi bir periodontal işlemde bulunulmadı ve DOS toplamak için özellikle saat 8.00 ila 10.00 arası tercih edildi.

DOS örnekleri Rudin ve ark. tarafından anlatılan teknik ile alındı.^{179, 180} Her bir hastada en derin dört periodontal cepten (5-8mm) DOS örnekleri alındı. DOS örnekleri standart boyutlarda hazırlanmış kağıt şerit* yardımıyla toplandı. Bölgeler işlem öncesi steril tamponlarla tükürükten izole edilerek, supragingival plak uzaklaştırıldı. Örneklenen diş yüzeyleri hafifçe hava sıkılarak kurutuldu ve kağıt şerit* sulkusta hafif direnç hissedilene kadar ilerletilerek 30 saniye bekletildi. Kan ve tükürük ile kontamine olan şeritler değerlendirilmeye alınmadı. Kağıt şeritlerdeki DOS miktarları Periotron[†] ünitesi biriminde ölçülen değerleri otomatik olarak 'Convert program' yardımıyla µl cinsine çevrildi. Bu işlemle hastadan elde edilen dört numune, 250 µl fosfat tampon (Phosphate Buffer Saline; PBS pH 7.4) içeren Eppendorf tüp[‡] içerisine konularak, ELISA analizlerine kadar -80°C'de muhafaza edildi.



Resim 3.1. Periotron 8000[®]

* Periapaper[™] (Oraflow Inc. Plainview, NY, USA)

[†] Periotron 8000[®] (Oraflow Inc. Plainview, NY, USA)

[‡] Microcentrifuge tubes, ISOLAB, Wertheim, Germany

3.5.2. Serum Örneklerinin Alınması

Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerden periodontal tedavi öncesi ve tedaviden 8 hafta sonra antekübital venöz damardan periferik kan örnekleri alındı. Vacutainer[§] tüpler ile alınan 6 ml venöz kan +4°C’de 5 dk süreyle 3000 rpm’de santrifüj cihazında^{**} santrifüj edildi. Serum ayrıştıktan sonra Eppendorf tüpe alınarak -80 °C’de saklandı.

3.5.3. Başlangıç Periodontal Tedavi

Her iki gruptaki hastalara, ultrasonik alet^{††} kullanarak tüm ağıza diş yüzey temizliği yapıldı. Bireylere diş fırçası ve diş ipi ve/veya ara yüz fırçası kullanımını içeren AHE tekrar hatırlatıldı. Plastik polisaj fırça ile polisaj patı^{‡‡} kullanarak dişlere polisaj yapıldı. Ardından lokal anestezi^{§§} altında Gracey küretler^{***} kullanarak, her yarım çenede kök yüzeyi düzleştirme işlemi yapıldı. Kök yüzeyi düzleştirmesi, sağ üst yarım çeneden başlayarak sağ alt yarım çenede sonlanacak şekilde saat yönünde bir sıra izlenerek tamamlandı.



Resim 3.2. Lokal anestezi altında Gracey küretler ile KYD işlemi

[§] Vacutainer (Greener Bio-one, Avusturya)

^{**} Nüve NF 800 R , Ankara, Turkey

^{††} EMS, Mini-Piezon, Nyon,Switzerland

^{‡‡} Detartrine, Septodont, Cedex, France

^{§§} Ultracaine DS Forte®, Hoechst Roussel, Frankfurt, Germany

^{***} Gracey curets, Hu-friedy, Chicago, USA



Resim 3.3. Ozonytron XP cihazının KPX kapiller uç ile gaz ozon uygulanması



Resim 3.4. Ozonytron XP^{†††} cihazı

Test grubunda BPT'yi takiben tüm ağızda periodontal cepler içerisine gaz ozon uygulaması kapiller uç (KPX) yardımıyla, üretici firmanın öngördüğü parametreler doğrultusunda (#9.program) 26µg gücünde (%60 gücünde 16600 ppm) her bir diş için 60 sn. süre ile üç gün arayla 1 hafta içinde toplam 2 kez uygulandı. Gaz ozonun her bir dişin periodontal cep yüzeylerine eşit zaman aralıklarında ve eşit miktarda uygulanmasına dikkat edildi. Uygulama sırasında ozonun inhalasyonunu engellemek için aspirasyon işlemi yapıldı.

Başlangıç periodontal tedavi kapsamında okluzal travma yaratabilecek erken temas noktaları kaldırıldı, plak birikimine neden olabilecek hatalı restorasyonlar düzeltildi. Başlangıç periodontal tedavinin ardından kontrol süreci boyunca, subgingival bölgeyi etkileyebilecek herhangi bir müdahalede bulunulmadı. Ozon grubunda

^{†††} Ozonytron XP, MYMED Gmb H, München, Germany

uygulanan ozon dışında, başlangıç periodontal tedaviye ek olarak herhangi bir antimikrobiyal ajan, destekleyici ilaç veya tedavi uygulanmadı.

3.6. Biyokimyasal Değerlendirme

DOS ve serum örneklerinin TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinin ölçümleri, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Bölümü Araştırma Laboratuvarı enzim bağımlı immün absorban yöntem 'Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay' (ELISA) ve (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10)^{†††} ve MMP-9^{§§§} ve için ticari ELISA kitleri kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışma gününden bir gün önce -80°C'de saklanan numuneler +4 °C'de 24 saat süreyle çözülmeye bırakıldı. Deney günü çalışılacak örnekler 30 sn. boyunca vorteks işlemi uygulandı. DOS örnekleri 10000 rpm'de 5 dk. Süreyle santrifüje edilerek, emici kağıt şeritlerden DOS'un ekstraksiyon işlemi tamamlandı. Bu işlem sonunda emici kağıt şeritler tüpten uzaklaştırıldı.

3.6.1. TNF- α Seviyesinin Belirlenmesi

DOS ve serum örnekleri TNF- α seviyeleri uygun ELISA kiti kullanılarak değerlendirildi. Bağlı antikor ile kaplı ELISA plağına her bir kuyucukta 50 μ l olmak üzere seyreltme sıvısı eklendi. Daha sonra kuyucuklara 100 μ l TNF- α standardı ve DOS-Serum örnekleri kondu. Plak 5 saniye hafifçe çalkalanarak standart ve örneklerin karışması sağlandı. ELISA plağı özel plastik örtü ile kaplanarak oda sıcaklığında iki saat inkübe edildi. Kuyucuklardaki standart ve örnekler uzaklaştırıldıktan sonra her kuyucuk 400 μ l yıkama tampon solüsyonuyla (% 0,05 Tween 20 FTS içinde, pH 7,2 – 7,4) dolacak şekilde beş defa yıkandı. İki yıkama arasında plaklar absorban kağıt havlulara vurularak kuyucukların tamamen kurulanması sağlandı. Bu işlemden sonra kuyucuklara 100 μ l araştırma antikorunu eklenerek oda sıcaklığında bir saat inkübe edildi.

^{†††} eBioscience, Bender Medsystems, Vienna, Austria

^{§§§} Quantikine®, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA

Plaklar iki yıkama arasında 1 dakika beklenecek toplam yedi defa yıkandı ve kurutuldu. Plaklar kurutulduktan sonra 100µl tek-adım boya maddesi her bir kuyucuğa ilave edilerek oda sıcaklığında, ışık almayacak bir yerde 15 dakika inkübe edildi. Son olarak kuyucuklara 50µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon sona dakika inkübe edildi. Son olarak kuyucuklara 50µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon sona erdirildi. Hemen sonrasında absorbans ELISA okuyucusunda 450 nm'de değerlendirildi. Örneklerdeki DOS-Serum TNF- α konsantrasyonları (pg/ml) standart eğri ile hesaplandı.

3.6.2. IL-1 β Seviyesinin Belirlenmesi

DOS ve serum örneklerinde IL-1 β seviyeleri uygun ELISA kiti kullanılarak değerlendirildi. Bağlı antikor ile kaplı ELISA plağının her bir kuyucuğuna 100µl IL-1 β standardı ve DOS-Serum örneği kondu. ELISA plağı özel plastik örtü ile kaplanarak oda sıcaklığında iki saat inkübe edildi. Kuyucuklardaki standart ve örnekler uzaklaştırıldıktan sonra her kuyucuk 400µl yıkama tampon solüsyonuyla (% 0,05 Tween 20 FTS içinde, pH 7,2-7,4) dolacak şekilde beş defa yıkandı. İki yıkama arasında plaklar absorban kağıt havlulara vurularak kuyucukların tamamen kurulanması sağlandı. Kurutma işleminden sonra her bir kuyucuğa 100µl araştırma antikor eklenerek oda sıcaklığında bir saat inkübe edildi. Plaklar beş defa yıkanarak kurutuldu. 100µl enzim konjugatı kuyucuklara eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Plaklar iki yıkama arasında 1 dakika beklenecek toplam yedi defa yıkandı ve kurutuldu. 100µl tek-adım boya maddesi her bir kuyucuğa ilave edilerek oda sıcaklığında, ışık almayacak bir yerde 15 dakika inkübe edildi. Son olarak kuyucuklara 50µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon sona erdirildi. Hemen sonrasında absorbans ELISA okuyucusunda 450 nm'de değerlendirildi. Örneklerdeki DOS-Serum IL-1 β konsantrasyonları (pg/ml) standart eğri ile hesaplandı.

3.6.3. IL-6 Seviyesinin Belirlenmesi

DOS ve serum örneklerinde IL-6 seviyeleri uygun ELISA kiti kullanılarak değerlendirildi. Bağlı antikor ile kaplı ELISA plağının her bir kuyucuğuna 100µl IL-6 standardı ve DOS-Serum örneği kondu. ELISA plağı özel plastik örtü ile kaplanarak oda sıcaklığında iki saat inkübe edildi. Kuyucuklardaki standart ve örnekler uzaklaştırıldıktan sonra her kuyucuk 400µl yıkama tampon solüsyonuyla (% 0,05 Tween 20 FTS içinde, pH 7,2-7,4) dolacak şekilde beş defa yıkandı. İki yıkama arasında plaklar absorban kağıt havlulara vurularak kuyucukların tamamen kurulanması sağlandı. Kurutma işleminden sonra her bir kuyucuğa 100µl araştırma antikorunu eklenerek oda sıcaklığında bir saat inkübe edildi. Plaklar beş defa yıkanarak kurutuldu. 100µl enzim konjugatı kuyucuklara eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Plaklar iki yıkama arasında 1 dakika beklenerek toplam yedi defa yıkandı ve kurutuldu. 100µl tek-adım boya maddesi her bir kuyucuğa ilave edilerek oda sıcaklığında, ışık almayacak bir yerde 15 dakika inkübe edildi. Son olarak kuyucuklara 50µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon sona erdirildi. Hemen sonrasında absorbans ELISA okuyucusunda 450 nm’de değerlendirildi. Örneklerdeki DOS-Serum IL-6 konsantrasyonları (pg/ml) standart eğri ile hesaplandı.

3.6.4. IL-10 Seviyesinin Belirlenmesi

DOS ve serum örneklerinde IL-10 seviyeleri uygun ELISA kiti kullanılarak değerlendirildi. Bağlı antikor ile kaplı ELISA plağının her bir kuyucuğuna 100µl IL-10 standardı ve DOS-Serum örneği kondu. ELISA plağı özel plastik örtü ile kaplanarak oda sıcaklığında iki saat inkübe edildi. Kuyucuklardaki standart ve örnekler uzaklaştırıldıktan sonra her kuyucuk 400µl yıkama tampon solüsyonuyla (% 0,05 Tween 20 FTS içinde, pH 7,2-7,4) dolacak şekilde beş defa yıkandı. İki yıkama arasında plaklar absorban kağıt havlulara vurularak kuyucukların tamamen kurulanması sağlandı.

Kurutma işleminden sonra her bir kuyucuğa 100µl araştırma antikoru eklenerek oda sıcaklığında bir saat inkübe edildi. Plaklar beş defa yıkanarak kurutuldu. 100µl enzim konjugatı kuyucuklara eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Plaklar iki yıkama arasında 1 dakika beklenecek toplam yedi defa yıkandı ve kurutuldu. 100µl tek-adım boya maddesi herbir kuyucuğa ilave edilerek oda sıcaklığında, ışık almayacak bir yerde 15 dakika inkübe edildi. Son olarak kuyucuklara 50µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon sona erdirildi. Hemen sonrasında absorban ELISA okuyucusunda 450 nm’de değerlendirildi. Örneklerdeki DOS-Serum IL-10 konsantrasyonları (pg/ml) standart eğri ile hesaplandı.

3.6.5. MMP-9 Seviyesinin Belirlenmesi

DOS ve serum örneklerinde MMP-9 seviyeleri uygun ELISA kiti kullanılarak değerlendirildi. Bağlı antikor ile kaplı ELISA plağının her bir kuyucuğuna 100µl MMP-9 standardı ve DOS-Serum örneği kondu. ELISA plağı özel plastik örtü ile kaplanarak oda sıcaklığında iki saat inkübe edildi. Kuyucuklardaki standart ve örnekler uzaklaştırıldıktan sonra her kuyucuk 400µl yıkama tampon solüsyonuyla (% 0,05 Tween 20 FTS içinde, pH 7,2-7,4) dolacak şekilde beş defa yıkandı. İki yıkama arasında plaklar absorban kağıt havlulara vurularak kuyucukların tamamen kurulanması sağlandı. Kurutma işleminden sonra her bir kuyucuğa 200µl araştırma antikoru eklenerek oda sıcaklığında bir saat inkübe edildi. Plaklar beş defa yıkanarak kurutuldu. 200µl enzim konjugatı kuyucuklara eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Plaklar iki yıkama arasında 1 dakika beklenecek toplam yedi defa yıkandı ve kurutuldu. 100µl tek-adım boya maddesi herbir kuyucuğa ilave edilerek oda sıcaklığında, ışık almayacak bir yerde 30 dakika inkübe edildi. Son olarak kuyucuklara 50µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon sona erdirildi. Hemen sonrasında absorban ELISA okuyucusunda 450 nm’de

değerlendirildi. Örneklerdeki DOS-Serum MMP-9 konsantrasyonları (pg/ml) standart eğri ile hesaplandı.

3.7. İstatistiksel Analiz

İstatistik analizleri SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) istatistik programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (SS) olarak verildi. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Tüm parametreler normal dağıldığı için tedavi öncesi ve sonrası değerleri, iki bağımlı gruptan elde edilen numerik verilerin ortalamalarının karşılaştırılmasında kullanılan bağımlı örneklerde *t*-testi (paired *t*-test) ile değerlendirildi. Uygulanan her iki tedavi sonrası değerlerin karşılaştırılmasında bağımsız örneklerde *t* testi (student *t* testi, independent samples *t* testi) kullanıldı. Korelasyon analizleri için Pearson korelasyon analizi kullanıldı. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Bulgular

Bu tez çalışması sistemik olarak sağlıklı ve kronik periodontitisli 50 birey (19 kadın, 31 erkek) üzerinde tamamlanmıştır. Hastaların yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo 4-1.'de gösterilmiştir. Tablo 4-1.'de görüldüğü gibi çalışmamız; kronik periodontitisli yaş ortalaması $42,16 \pm 6,32$ (33-55) olan 10 kadın 15 erkekten oluşan Test grubu, yaş ortalamaları $40,16 \pm 8,04$ (31-57) olan 9 kadın ve 16 erkekten oluşan Kontrol grubu üzerinde yürütülmüştür.

Tablo 4.1: Gruplara göre yaş ve cinsiyet dağılımı

Gruplar	Sayı	Yaş (Ort+SS)	Cinsiyet	
			Kadın	Erkek
Test Grubu	25	42,16±6,32	10	15
Kontrol Grubu	25	40,16±8,04	9	16

4.2. Klinik Bulgular

Hastalara ait klinik periodontal ölçümlerin ve DOS Hacminin başlangıç ve BPT'den 8 hafta sonra elde edilen değerlerin ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 4-2.'de gösterilmiştir. Test ve kontrol grupları karşılaştırıldığında, başlangıç klinik periodontal ölçümlerde ve DOS hacminde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p > 0.05$). BPT sonrası, DOS hacminde Test ve Kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmez iken ($p > 0.05$), klinik periodontal ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p < 0.05$).

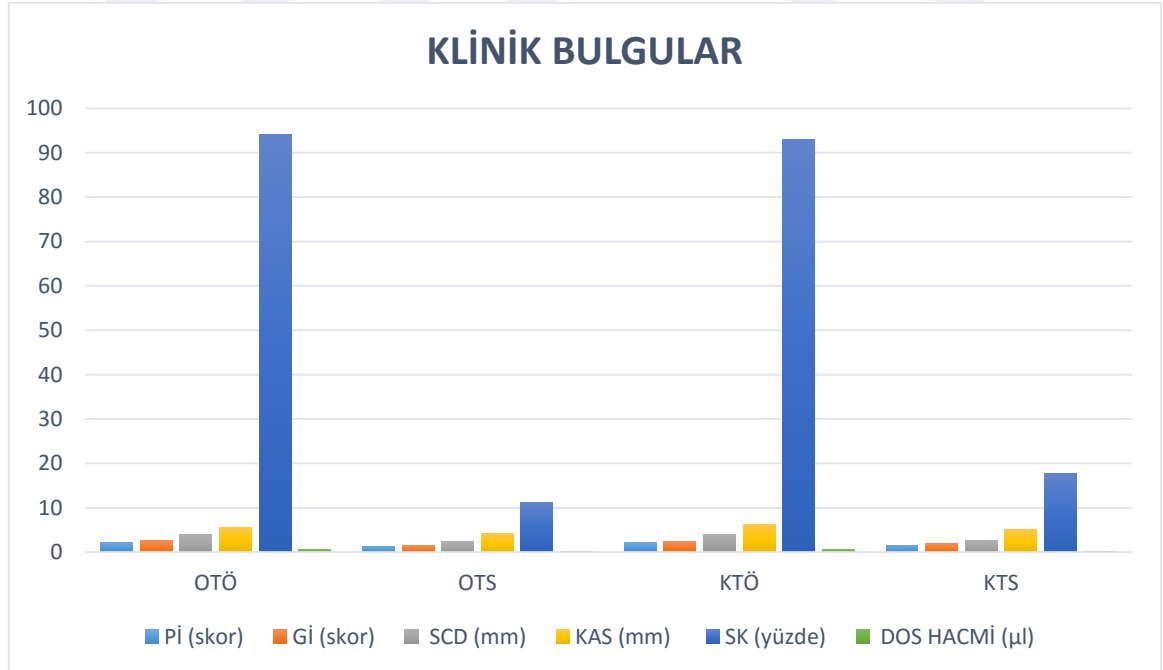
Test ve Kontrol gruplarında tüm klinik periodontal ölçümler ve DOS Hacminde başlangıç ve BPT sonrası istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$).

Tablo 4.2: Klinik Periodontal Ölçümlerin Gruplar arasında, başlangıç ve 8.haftadaki karşılaştırılması

	Test Grup		Kontrol Grup	
	Başlangıç	BPT sonrası	Başlangıç	BPT sonrası
Pİ (Ort+SS)	2,26±0,38	1,33±0,37 ^{a,b}	2,15±0,34	1,62±0,37 ^a
Gİ (Ort+SS)	2,50±0,44	1,53±0,45 ^{a,b}	2,32±0,46	1,86±0,42 ^a
SK (Ort+SS)	94,12 ±10,33	11,26± 7,23 ^{a,b}	92,92 ±9,50	17,69 ± 10,70 ^a
SCD (Ort+SS)	3,88±0,48	2,33±0,28 ^{a,b}	4,07±0,70	2,60±0,43 ^a
KAS (Ort+SS)	5,61±0,95	4,12±0,39 ^{a,b}	6,23±1,26	5,03±0,96 ^a
DOS HACMİ (µl) (Ort+SS)	0,65±0,20	0,09±0,05 ^a	0,69± 0,16	0,11±0,05 ^a

a harfi başlangıç değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı değişimi göstermektedir (p<0.05).

b harfi gruplar arası karşılaştırmadaki istatistiksel olarak anlamlı farkı göstermektedir (p<0.05).



Şekil 4.1: Klinik bulgular grafiği

4.3. Laboratuvar Bulguları

Test ve Kontrol grupları arasında, başlangıç ve BPT sonrası DOS ve serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinin ortalama değerleri ve bu değerlerin istatistiksel olarak karşılaştırılması Tablo 4-3.' te verilmiştir.

Tabloya bakıldığında, Kontrol grubunda DOS TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 başlangıç seviyeleri BPT sonrası azalmış ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır($p<0.05$).

Test grubunda ise DOS IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 başlangıç seviyeleri BPT sonrası azalmış ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Kontrol grubunda serum IL-6 ve MMP-9 başlangıç seviyeleri BPT sonrası azalmış ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Test grubunda başlangıç ve BPT sonrası kıyaslandığında serum TNF- α seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmesine rağmen ($p<0.05$), serum IL-6, IL-10 ve MMP-9 başlangıç seviyeleri BPT sonrası azalmış ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Gruplar arası karşılaştırmada, Test ve Kontrol grupları arasında başlangıç DOS ve serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0.05$).

BPT sonrası Test ve Kontrol grupları karşılaştırıldığında, Kontrol grubunda DOS TNF- α seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma görülürken ($p<0.05$), DOS MMP-9 seviyelerinde Test grubunda anlamlı derecede azalma olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

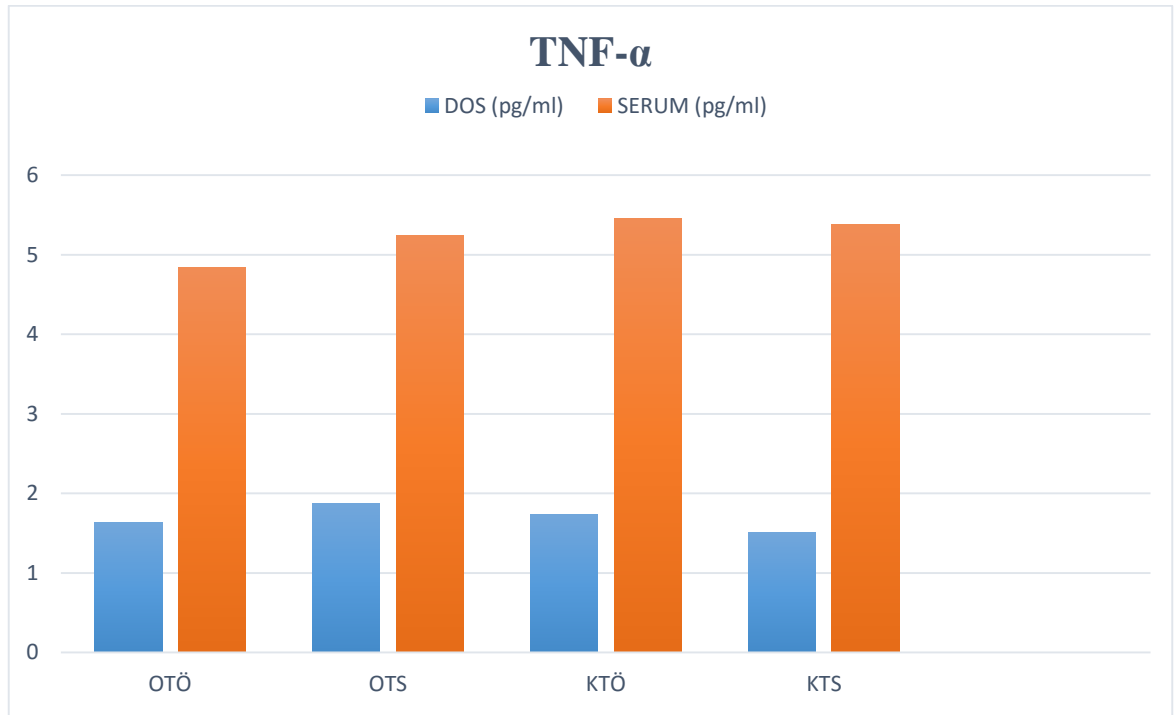
BPT sonrası Test ve Kontrol grubu kıyaslandığında serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

Tablo 4-3. Biyokimyasal Parametrelerin Gruplar arasında, başlangıç ve 8.haftadaki karşılaştırılması

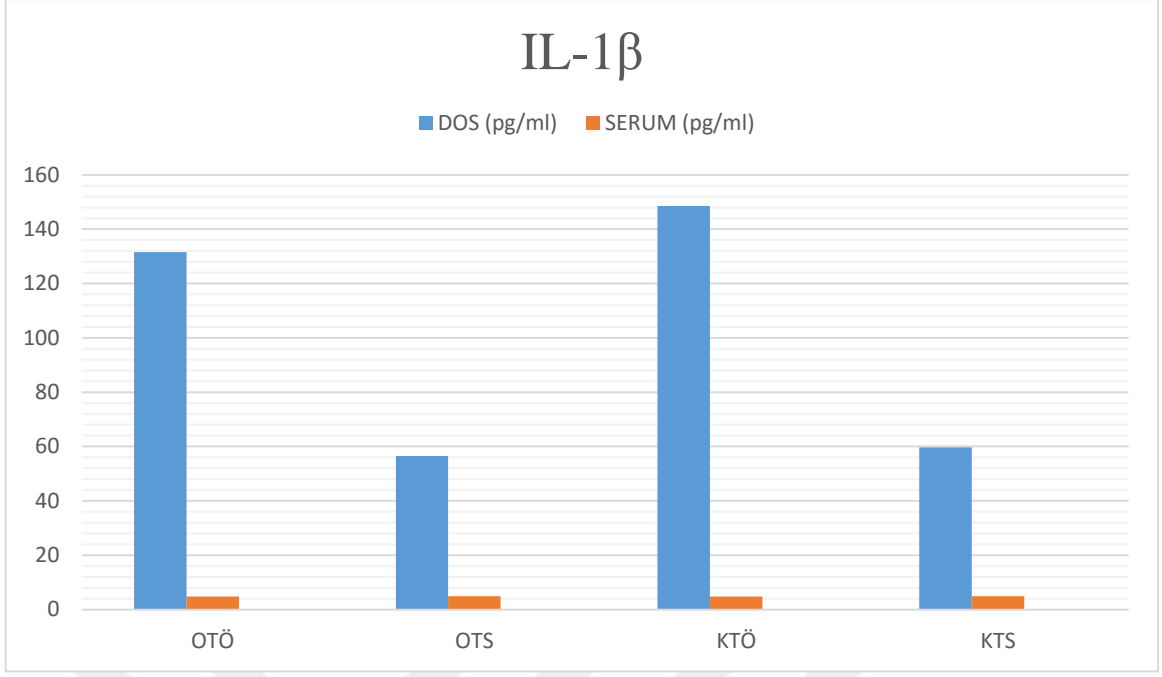
	DOS (pg/ml)		Serum(pg/ml)	
	Başlangıç	BPT Sonrası	Başlangıç	BPT Sonrası
TNF-α				
Test Grubu	1.63 \pm 0.32	1.87 \pm 0.51	4,84 \pm 0,50	5,24 \pm 0,58 ^a
Kontrol Grubu	1.73 \pm 0.35	1.51 \pm 0,19 ^{a,b}	5,46 \pm 0,75	5,39 \pm 0,78
IL-1β				
Test Grubu	131.52 \pm 53.49	56.52 \pm 38.29 ^a	4,78 \pm 0,71	4,89 \pm 1,30
Kontrol Grubu	148,57 \pm 68.29	59.64 \pm 40.35 ^a	4,73 \pm 1,06	4,94 \pm 1,27
IL-6				
Test Grubu	3.35 \pm 0.46	1.08 \pm 0.15 ^a	4,04 \pm 0,31	3,92 \pm 0,18 ^a
Kontrol Grubu	3.51 \pm 1.18	0.97 \pm 0.45 ^a	4,25 \pm 0,54	3,89 \pm 0,47 ^a
IL-10				
Test Grubu	1.40 \pm 0.58	0.71 \pm 0.21 ^a	2,22 \pm 1,42	1,61 \pm 0,73 ^a
Kontrol Grubu	1.41 \pm 0.59	0.82 \pm 0.35 ^a	2,20 \pm 1,44	2,16 \pm 1,32
MMP-9				
Test Grubu	93.73 \pm 48.90	14.37 \pm 5.91 ^{a,b}	76,15 \pm 10,46	59,12 \pm 6,58 ^a
Kontrol Grubu	98.47 \pm 43.47	45.30 \pm 14,61 ^a	69,62 \pm 11,17	56,14 \pm 10,29 ^a

a harfi başlangıç değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı değişimi göstermektedir (p<0.05).

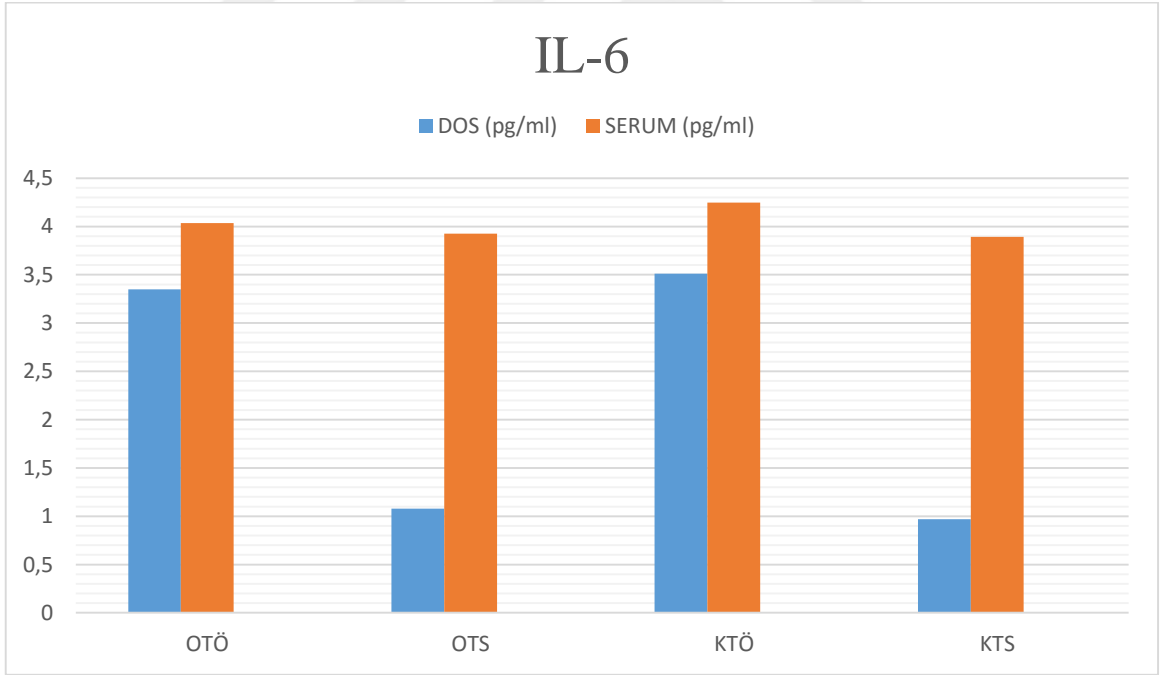
b harfi gruplar arası karşılaştırmadaki istatistiksel olarak anlamlı farkı göstermektedir (p<0.05).



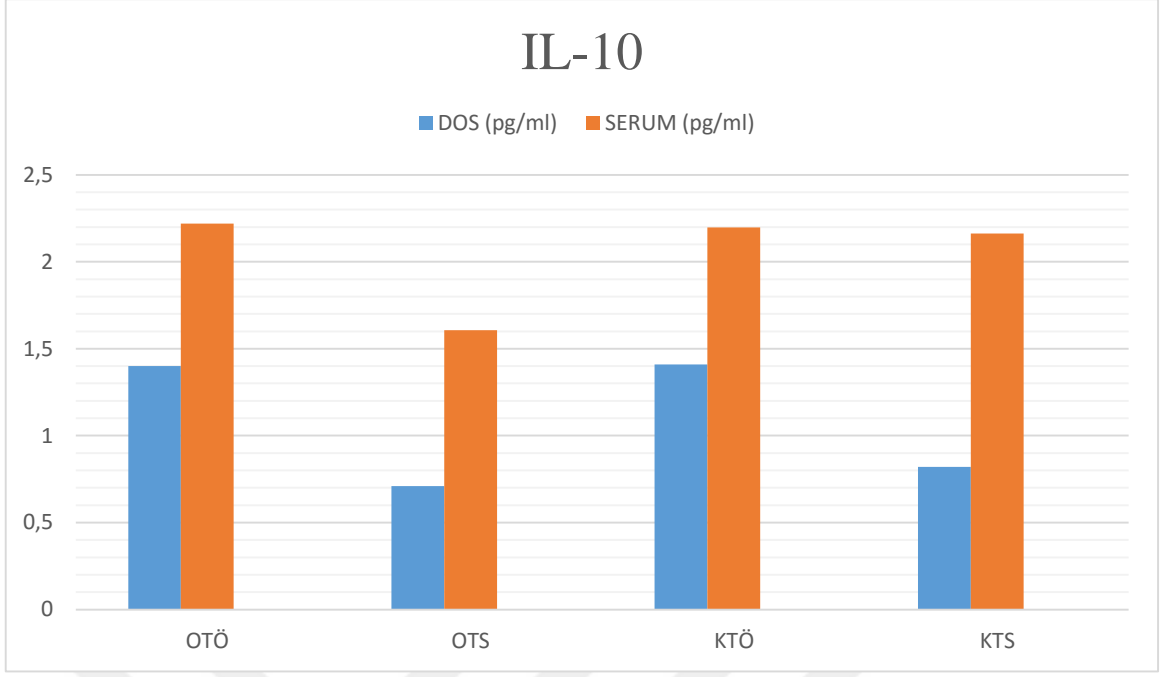
Şekil 4.2. DOS ve serum TNF- α konsantrasyon bulgular grafiği



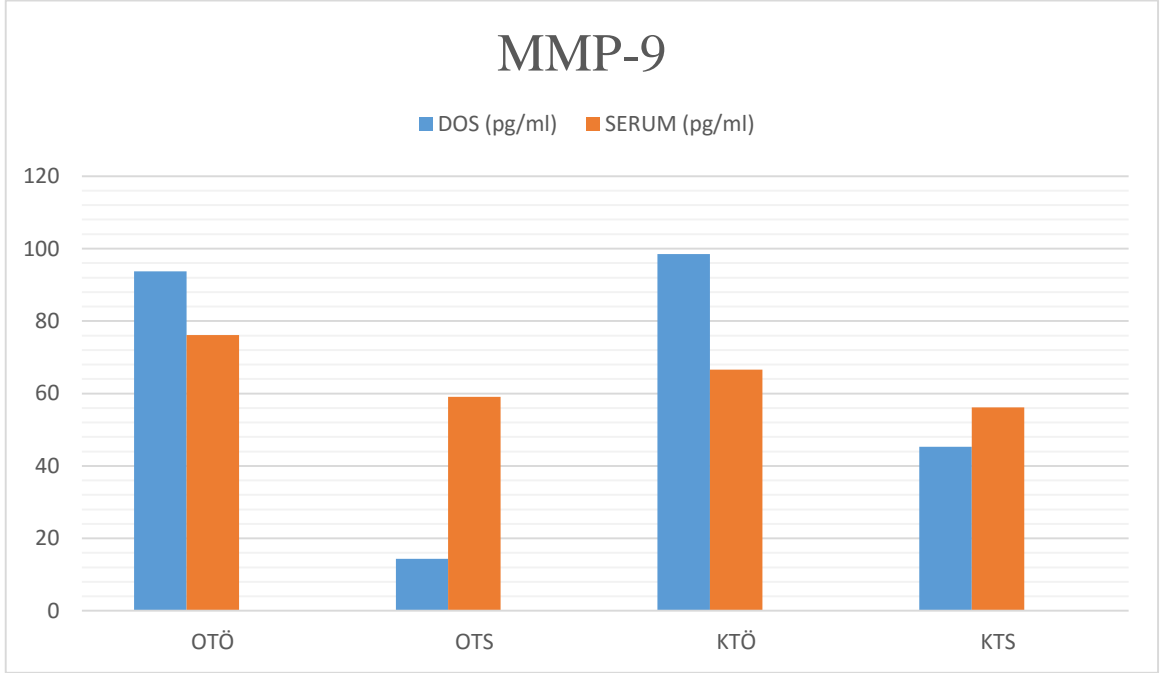
Şekil 4.3. DOS ve serum IL-1 β konsantrasyon bulgular grafiği



Şekil 4.4. DOS ve serum IL-6 konsantrasyon bulgular grafiği



Şekil 4.5. DOS ve serum IL-10 konsantrasyon bulgular grafiği



Şekil 4.6. DOS ve serum MMP-9 konsantrasyon bulgular grafiği

4.4. Korelasyonlar

Test ve kontrol gruplarında klinik periodontal ölçümler ile biyokimyasal parametreler arasında tedavi sonrası korelasyonlar Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tabloda da görüldüğü gibi test grubunda gaz ozon tedavisi sonrası Pİ hariç diğer klinik periodontal ölçümler ile IL-1 β hariç diğer biyokimyasal parametreler arasında korelasyonlar görülmüştür. Bazı klinik periodontal ölçümler ile TNF- α , IL-10 ve MMP-9 arasında negatif korelasyon saptanırken, diğerlerinde pozitif korelasyon görülmüştür.

kontrol grubunda BPT sonrası Pİ, SCD ve KAS'ı gibi klinik periodontal ölçümler ile IL-10 hariç diğer biyokimyasal parametreler arasında korelasyona rastlanmıştır. KAS ile IL-1 β ile MMP-9 arasında pozitif korelasyon görülürken, diğerlerinde negatif korelasyon gözlenmiştir.

Tablo 4.4. BPT ve ozon tedavisi sonrası klinik periodontal ölçümler ile biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar

		r	p
Test Grubu (BPT+Gaz Ozon Tedavisi Sonrası)	Gİ – DOS MMP-9	-0.285	0.045
	Gİ – Serum TNF- α	0.404	0.004
	SK- DOS TNF- α	0.457	0.022
	SCD – DOS TNF- α	-0.319	0.024
	SCD – DOS IL-6	0.416	0.039
	SCD – DOS IL-10	-0.576	0.003
	KAS – DOS TNF- α	-0.453	0.023
	DOS hacmi – DOS TNF- α	0.778	0.000
Kontrol Grubu (BPT Sonrası)	Pİ – Serum MMP-9	-0.431	0.032
	SCD – DOS TNF- α	-0.656	0.000
	KAS – DOS IL-6	-0.536	0.006
	KAS – DOS MMP-9	0.515	0.008
	KAS – Serum IL-1 β	0.523	0.007
	KAS – Serum TNF- α	-0.614	0.001

r:Pearson korelasyon katsayısı

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı; KP'li bireylerde BPT'ye yardımcı olarak gaz ozonun klinik periodontal ölçümlere ve biyokimyasal açıdan DOS ve serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyeleri üzerine etkisinin olup olmadığını araştırmaktır. Çalışmamızın sonucunda; BPT sonrası gaz ozon uygulanan hastalarda klinik periodontal ölçümlerde ve DOS hacminde anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir. DOS ve serum IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma saptanırken, DOS ve serum TNF- α seviyelerinde artma olduğu görülmüştür.

AHE ve SRP işlemlerini ihtiva eden BPT'nin periodontal hastalıkların tedavisindeki önemi birçok klinik ve mikrobiyolojik çalışma ile bildirilmiştir.^{6, 181-183} Kronik periodontitis hastalarında BPT klinik bulguların düzelmesini sağladığı gibi, periodontal hastalık etkeni olan subgingival mikrobiyal bakteri ve periodontopatojenlerin sayısını azalttığı bildirilmiştir.⁷ Ancak çok köklü dişler, furkasyon alanları, kök konkaviteyi, interproksimal bölgeler ve derin ceplerin mevcudiyetinde periodontal enstrümantasyonun güçleşmesiyle subgingival periodontopatojenlerin eliminasyonu yetersiz kalması ve bazı patojenlerin yumuşak dokuya invaze olmasından dolayı periodontal tedavide lokal ve sistemik antibiyotikler, topikal antiseptikler gibi anti-infektif ajanlar ile lazer ve ozon gibi ilave uygulamaların kullanılması tavsiye edilmektedir.

Yeni tedavi metodlarından biri olan ozon uygulaması hızlı, ağrısız ve non-invazivdir. Diş hekimliğinde geniş kullanım alanına sahip olan ozon tedavisi, periodontal cepte kolonize olan patolojik mikrofloranın yok edilmesini ve yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri sebebiyle 1930'lardan günümüze kadar periodontolojide kullanımı tavsiye edilmektedir.^{135, 155, 157, 166, 169}

Tıp ve diş hekimliğinde kullanım alanına sahip olan medikal ozonun, periodontal hastalıkların tedavisinde de kullanımı tavsiye edilmektedir.^{135, 155, 157, 166, 169} Ancak, periodontal hastalığın tedavisinde gaz ozonun kullanımı ve etkinliği ile ilgili klinik araştırma yeterince mevcut olmadığından, bu tez çalışmasını gaz ozonun periodontal hastalığın tedavisinde klinik ve antiinflamatuvar etkinliğini araştırmak üzere tasarladık.

Periodontal enfeksiyona bağlı olarak meydana gelen doku yıkımını ve periodontal tedavi başarısını değerlendirilmesinde kullanılan Pİ, Gİ, SK, SCD ve KAS ölçümleri, gerek hastalık şiddetinin gerekse periodontal tedavi ile elde edilen başarı seviyesinin belirlenmesinde önemli parametreler olduğu bilinmektedir.^{7, 125, 184, 185} Bu tez çalışmasının sonucunda Pİ, Gİ, SK, SCD ve KAS değerleri, BPT sonrası anlamlı derecede azalmıştır. Bu sonuçlar günümüze kadar yapılmış olan birçok çalışmanın sonuçları ile uyumludur.^{7, 125, 185, 186}

Periodontal hastalığın tedavisinde kullanılan kök yüzeyi düzleştirme işlemi her yarım çeneye ayrı seansta uygulanabileceği gibi, tek seansta da uygulanabilmektedir. Tek seansta yapılan kök yüzeyi düzleştirmesinin, rekolonizasyonu engellemede daha etkin olduğu belirtilirken¹⁸³, her iki tedavi şeklinin arasında fark olmadığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır¹⁸⁷. Çalışmamızda seanslar arası olası bir re-enfeksiyonun önlenmesi ve örnekleme seanslarının düzenli takibi açısından kök yüzeyi düzleştirme tek seansta yapılmıştır.

Bu tez çalışmasında DOS hacmi değerlerinin BPT sonrasında azaldığı gözlenmiştir. Kontrol grupta, başlangıçta 0.69 ± 0.16 μ l olan DOS hacmi, BPT sonrası 0.11 ± 0.05 μ l'ye düşerken, test grubunda 0.65 ± 0.20 μ l'den, 0.09 ± 0.05 μ l'ye düşmüştür ($p < 0.05$). Bugüne kadar yapılan birçok araştırmada da, BPT sonrasında DOS hacminin azaldığı rapor edilmiştir.^{75, 117, 188-191} DOS hacmindeki değişim ile ilgili yapılan birçok araştırmada sıvı hacminin klinik periodontal ölçümler ile pozitif ilişki gösterdiğinden de

bahsedilmektedir.^{118, 192} Periodontal hastalıkların tedavisinde, başlangıç periodontal tedaviden 1-2 hafta sonra birleşim epiteli diş kökünün yüzeyine yapışır, daha sonraki 4-8 hafta içinde bağ dokusunun yeniden yapılanması tamamlanır. Bu sebeple cerrahisiz periodontal tedavi sonrası hastaların klinik olarak yeniden değerlendirilmesi için 4-8 haftanın uygun olduğu belirtilmiştir.^{125, 193} Bu tez çalışmasında BPT'den 8 hafta sonra örnek alınımı tekrarlanmıştır.

Günümüze kadar yapılan in-vivo ve in-vitro araştırmalarda ozonize su, ozonize yağ ve gaz ozonun 6-60 sn. arasında değişen sürelerde ve tekrarlayan dozlarda uygulaması yapılmıştır.^{136, 138, 162, 168} Bizim araştırmamızda üretici firma talimatına uygun şekilde subgingival olarak her bir dişe 60 sn. ve üç gün arayla 2 defa gaz ozon uygulanmıştır. Muller ve ark.¹⁶² ile Huth ve ark.¹⁵⁷ yaptıkları in vitro çalışmada gaz ozon uygulamasını 60 sn. olarak yapmışlardır. Bununla birlikte Bektaş'ın yaptığı tez çalışmasında¹⁷⁴ üç gün arayla toplam 3 kez, Algan'ın tez çalışmasında^{135, 173} ise üç gün arayla toplam 2 kez gaz ozon uygulanmıştır.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, periodontal tedavi sonrası DOS TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinde değişimler meydana geldiği bilinmektedir.^{53, 74-76, 194} Bu tez çalışmasının sonucunda, BPT sonrası her iki grupta DOS TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinde bir azalma meydana geldiği görülmüştür. Thunell ve ark.⁷⁵, şiddetli generalize kronik periodontitis hastalarında BPT sonrası, DOS IL-1 β ve IL-6 seviyelerinin başlangıç seviyelerine göre anlamlı şekilde azaldığını rapor etmişlerdir. Şöyle ki, Thunell ve ark.'nın araştırmasında kronik periodontitisli bireylerde DOS IL-1 β seviyesi başlangıçta 284 ± 369 pg/30s iken, BPT sonrası 8. haftada 95 ± 168 pg/30s seviyelerine azalmıştır. Bizim çalışmamızda, başlangıçta 148.57 ± 68.29 pg/ml olan DOS IL-1 β seviyesi, BPT sonrası 59.64 ± 40.35 pg/ml'ye düşmüştür ($p < 0.05$). Diğer bir araştırmada, kronik periodontitisli hastalarda

DOS TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-10 seviyelerini BPT sonrası değerlendirmişler ve sonuçta anlamlı derecede azalma olduğunu bildirmişlerdir.⁷⁶ Marcaccini ve ark. kronik periodontitis bireylerde DOS MMP-9 düzeyini araştırdıkları bir çalışmada, BPT'yi takiben 3. ayda anlamlı derecede azalma olduğunu bildirmişlerdir.¹⁹⁴ Bu araştırmaların sonuçları bizim tez çalışmamızın sonuçları ile uyumludur.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, periodontal tedavi sonrası DOS TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinde herhangi bir değişim olmadığını bildiren araştırmalar da bulunmaktadır.^{73, 195-198} Goutoudi ve ark.¹⁹⁶ kronik periodontitisli hastalarda BPT sonrası DOS IL-10 seviyesinde herhangi bir değişime rastlamamışlardır. Ikezawa-Suzuki ve ark.¹⁹⁸ yaptığı farklı bir araştırmada kronik periodontitisli hastalarda BPT sonrası DOS TNF- α seviyesinde herhangi bir değişim tespit edilememiştir. Kardeşler ve ark.⁷³'nin yaptığı bir çalışmada kronik periodontitisli hastalarda BPT sonrası DOS IL-1 β ve IL-6 seviyelerinde herhangi bir azalma gözlenmemiştir. Pourabbas ve ark.¹⁹⁷ DOS TNF- α ve MMP-9 seviyelerini BPT tedavisi sonrasında değerlendirmişler, TNF- α seviyesi anlamlı şekilde azalırken, MMP-9 seviyesinde herhangi bir değişim meydana gelmediğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca, Calderin ve ark.¹⁹⁵ BPT sonrası TNF- α , IL-1 β seviyelerindeki değişimi incelemişler, BPT sonrası her iki sitokin seviyelerinin de arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmaların sonuçları bizim tez çalışmamızın sonuçları ile uyumlu değildir. Uyumsuzluğun sebebi olarak ilgili araştırmalardaki metodolojik, örnek büyüklüğü, istatistiksel ve hasta seçim kriterlerindeki farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, periodontal tedavi sonrası serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinde değişimler meydana geldiği bilinmektedir.¹⁹⁹⁻²⁰³ Javed ve ark. kronik periodontitis hastalarında BPT sonrası, serum IL-1 β ve MMP-9 seviyelerinde başlangıç seviyelerine göre 3.ayda anlamlı şekilde

azaldığını rapor etmişlerdir. Marcaccini ve ark.²⁰³ kronik periodontitisli bireylerde plazma MMP-9 seviyesini araştırdıkları bir çalışmada, BPT sonrası MMP-9 seviyelerinin %39 oranında anlamlı derecede azaldığını tespit etmişlerdir. Bu tez çalışmasının sonucunda, serum IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinde azalma tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar bu çalışmalarla uyumludur.

Literatürde, kronik peridontitiste BPT sonrası serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerinde herhangi bir değişim olmadığını rapor eden araştırmalar da mevcuttur.^{204, 205} Fentoğlu ve ark.²⁰⁴ BPT tedavi sonrası serum TNF- α , IL-1 β ve IL-6 sitokinlerin düzeylerini inceledikleri bir araştırmada, bu sitokinlerin düzeylerinde değişim meydana gelmediğini bildirmişlerdir. Behle ve ark.²⁰⁵ BPT sonrası serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerini değerlendirdikleri bir araştırmada, BPT sonrasında bu biomediyatörlerin seviyelerinde herhangi bir değişime rastlanmadığını rapor etmişlerdir. Bu uyumsuzluğun sebebi olarak ilgili araştırmalardaki hasta grupları arasında ve çalışma periyodundaki farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Bu çalışmada, gaz ozon tedavisi sonrası klinik periodontal ölçümlerde başlangıç değerlerine göre BPT sonrası düzelme meydana geldiği gözlenmiştir. Yapılan araştırmalarda periodontitisli bireylerde ozonize su tedavisinin tek başına yapılan BPT'ye göre klinik periodontal ölçümleri iyileştirmede daha etkili olduğu tespit edilmiştir.^{166, 168, 169, 206, 207} Ramzy ve ark.¹⁶⁸ agresif periodontitisli bireylerde BPT'ye ilaveten uygulanan ozonize su tedavisinin Pİ, Gİ, SCD ve KAS'ı içeren klinik periodontal ölçümlerde, tek başına BPT uygulanmasına göre anlamlı bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Kshitish ve ark.¹⁶⁶ kronik periodontitisli bireylerde BPT'ye ilaveten uygulanan ozonize suyun klinik periodontal ölçümleri 18. Günde istatistiksel olarak önemli derecede iyileştirdiğini göstermişlerdir. Katti ve ark.²⁰⁶ 5 mm'den fazla

olan ceplere BPT'ye ilaveten uyguladıkları ozonize suyun 30 gün sonraki değerlendirmede klinik periodontal ölçümlerde anlamlı derecede azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Dodwad ve ark.²⁰⁷ kronik periodontitisli hastalarda BPT'ye ilaveten ozonize su uygulaması sonrası klinik periodontal ölçümlerde iyileşme meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Yine son yıllarda yapılan bir araştırmada, Hayakumo ve ark.¹⁶⁹ kronik periodontitisli hastalarda BPT'ye ilaveten uygulanan ozonize suyun 4 hafta sonra klinik periodontal ölçümleri iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları tez çalışmamızın sonuçları ile uyumludur.

BPT'ye ilaveten uygulanan ozon tedavisinin, Pİ, Gİ, SCD ve KAS'ı içeren klinik periodontal ölçümlerde herhangi bir etkisinin olmadığını bildiren araştırmalar da bulunmaktadır.^{135, 208, 209} Yılmaz ve ark.¹³⁵ yaptıkları çalışmada gaz ozon uyguladıkları kronik periodontitis hastalarının klinik periodontal ölçümlerinde 90. günde tek başına BPT uygulanan grup ile arasında anlamlı farklılık olmadığını tespit etmişlerdir. Bu araştırmaların sonuçları bizim tez çalışmamızın sonuçları ile uyumlu değildir. Uyumsuzluğun sebebi olarak ilgili araştırmalardaki farklı tip ozon kullanımı, ozon dozu ve uygulama süresi, uygulama metodundaki farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Bu tez çalışmasında kronik periodontitisli bireylerde BPT'ye ilaveten medikal ozonun DOS ve serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyelerine etkileri araştırılmıştır. Yapılan literatür taramasında kronik periodontitis tedavisinde, ozonize suyun tükürük MMP-9 seviyesine etkilerini inceleyen araştırma haricinde herhangi bir klinik çalışmaya rastlanmamıştır.²⁰⁸ Skurska ve ark.²⁰⁸ KP'li hasta grubunda ozonize su ile yaptıkları tedavi sonrası tükürük MMP-9 seviyesinde artış, agresif periodontitisli hasta grubunda ise tükürük MMP-9 seviyesinde azalma tespit etmişlerdir. MMP-9 seviyesindeki artış asidik pH'a sahip periodontal cep içerisine uygulanan ozonize su,

cep ortamını alkalik pH'a çevirmekte ve alkalik pH MMP-9 aktivitesini arttırdığını ileri sürmüşlerdir.²⁰⁸ Bu tez çalışmasında DOS MMP-9 seviyesi gaz ozon tedavisi sonrası tek başına BPT yapılan gruba göre anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir ($p<0.05$).

Bu tez çalışması, gaz ozon tedavisi sonrası DOS ve serumda biyokimyasal parametrelerin varlığını araştıran ilk çalışmadır. Bu çalışmada kronik periodontitisli hastalarda, başlangıç seviyelerine göre gaz ozon tedavisi sonrası DOS IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyeleri anlamlı derecede azalmıştır ($p<0.05$). Bu sonuçları karşılaştırabileceğimiz herhangi bir araştırmaya rastlamadık, dolayısıyla bu sonuçlar literatüre kazandırılan ilk sonuçlardır. Bu biyokimyasal parametrelerin seviyelerindeki azalmanın ozonun antienflamatuvar etkisinden kaynaklandığına dayandırabiliriz.

Bu çalışmada kronik periodontitisli hastalarda, başlangıç seviyelerine göre gaz ozon tedavisi sonrası serum TNF- α seviyesi artarken, IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyeleri anlamlı derecede azalmıştır ($p<0.05$). Ozon tedavisi sonrası serum TNF- α seviyesindeki artış; gaz ozonun etkisiyle, H₂O₂ oluşarak inflamatuvar sürecin patogenezinde anahtar rol oynayan mediyatörlerin salınımının artmasından kaynaklanmaktadır.^{141, 145, 210} Bu sonuçları karşılaştırabileceğimiz herhangi bir araştırma günümüze kadar yayınlamamış olduğundan, çalışmamızın bu sonuçları literatüre kazandırılan ilk ve temel verilerdir.

Şimdiye kadar yapılan araştırmalar ve tez çalışmamızın sonuçları dikkate alındığında, klinik periodontal ölçümler ve biyokimyasal parametreler arasında gözlenen yakın ilişki, klinik periodontal iyileşmenin biyokimyasal parametreleri etkilediği, BPT ve ilaveten gaz ozon tedavisi DOS hacmini azaltarak klinik periodontal ölçümleri iyileştirdiği ve biyokimyasal parametrelere etki ettiğini ortaya koymaktadır. Medikal ozon tedavisinde en önemli konu, inhalasyona bağlı toksik etkileri gözlenmeden tatmin edici klinik periodontal sonuçları elde etmek için her üç ozon

tipiyle gücü, uygulama süresi ve sıklığı gibi parametreler dikkate alınarak uzun ve kısa dönem etkilerini klinik olarak inceleyen bilimsel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasının sonuçları değerlendirildiğinde,

1. Başlangıç periodontal tedavi sonrası Pİ, Gİ, SK, SCD, KAS'ı içeren tüm klinik periodontal ölçümlerin azaldığı gözlenmiştir.
2. BPT'ye ilaveten gaz ozon tedavisi sonrası Pİ, Gİ, SK, SCD, KAS'ı içeren tüm klinik periodontal ölçümlerde düzelme tespit edilmiştir.
3. BPT'ye ilaveten gaz ozon tedavisi uygulaması tek başına BPT uygulamasına göre, tüm klinik periodontal ölçümlerde önemli derecede daha iyi düzelme meydana getirmiştir.
4. Başlangıç seviyelerine göre BPT ve ozon tedavisi sonrası DOS hacmi istatistiksel olarak önemli derecede azalma saptanmıştır.
5. BPT sonrası DOS TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 ile serum IL-6 ve MMP-9 seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır.
6. BPT'ye ilaveten gaz ozon tedavisi sonrası DOS IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 ile serum IL-6, IL-10 ve MMP-9 seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir.
7. Gaz ozon tedavisi sonrası serum TNF- α seviyesinde istatistiksel olarak önemli derecede artma meydana gelmiştir.
8. Tek başına yapılan BPT ile kıyaslandığında gaz ozon tedavisi sonrası DOS MMP-9 seviyesinde azalma gözlenirken, DOS TNF- α seviyesinde bir artma tespit edilmiştir.
9. Tek başına BPT ve BPT'ye ilave olarak gaz ozon uygulaması sonrası bazı klinik periodontal ölçümler ve DOS hacmi ile TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve MMP-9 arasında korelasyon olduğu saptanmıştır.
10. KP'li hastalarda BPT'ye ilave olarak uygulanan gaz ozon tedavisinin klinik iyileşme ve antienflamatuvar etkinliği, hem biyokimyasal parametrelerde hem de klinik periodontal ölçümlerdeki düzelme ile gözlenmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1998, 9: 248-266.
2. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol Res*, 1991, 26: 230-242.
3. Flemmig TF. Periodontitis. *Ann Periodontol*, 1999, 4: 32-38.
4. Smalley JW. Pathogenic mechanisms in periodontal disease. *Adv Dent Res*, 1994, 8: 320-328.
5. O'Leary TJ. The impact of research on scaling and root planing. *J Periodontol*, 1986, 57: 69-75.
6. Van der Weijden GA, Timmerman MF. A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2002, 29 Suppl 3: 55-71; discussion 90-51.
7. Knofler GU, Purschwitz RE, Jentsch HF. Clinical evaluation of partial- and full-mouth scaling in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol*, 2007, 78: 2135-2142.
8. Greenstein G. Nonsurgical periodontal therapy in 2000: a literature review. *J Am Dent Assoc*, 2000, 131: 1580-1592.
9. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*, 1999, 4: 1-6.
10. Armitage GC. Classifying periodontal diseases--a long-standing dilemma. *Periodontol 2000*, 2002, 30: 9-23.
11. Listgarten MA. Pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol*, 1986, 13: 418-430.
12. Takei HH, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology: Clinical Diagnosis. 11. Baskı. Elsevier Saunders, 2012: 340-358.
13. Novak MJ, Novak KF. Carranza's Clinical Periodontology: Chronic Periodontitis. 11th edition Baskı. Elsevier Saunders, 2012: 160-164.
14. Sahingur SE, Cohen RE. Analysis of host responses and risk for disease progression. *Periodontol 2000*, 2004, 34: 57-83.
15. Beck JD, Koch GG, Zambon JJ, Genco RJ, Tudor GE. Evaluation of oral bacteria as risk indicators for periodontitis in older adults. *J Periodontol*, 1992, 63: 93-99.
16. Consensus report. Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol*, 1996, 1: 926-932.
17. Giannobile WV. Host-response therapeutics for periodontal diseases. *J Periodontol*, 2008, 79: 1592-1600.
18. Berezow AB, Darveau RP. Microbial shift and periodontitis. *Periodontol 2000*, 2011, 55: 36-47.
19. Oringer RJ, Research S, Therapy Committee of the American Academy of P. Modulation of the host response in periodontal therapy. *J Periodontol*, 2002, 73: 460-470.
20. Lindhe J, Ericsson I. Effect of ligature placement and dental plaque on periodontal tissue breakdown in the dog. *J Periodontol*, 1978, 49: 343-350.
21. Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 1979, 6: 351-382.
22. Loesche WJ, Syed SA, Schmidt E, Morrison EC. Bacterial profiles of subgingival plaques in periodontitis. *J Periodontol*, 1985, 56: 447-456.

23. Papanou PN. Risk Assessment in the Diagnosis and Treatment of Periodontal Diseases. *J Den Edu*, 1998, 62: 822-839.
24. Position paper: epidemiology of periodontal diseases. American Academy of Periodontology. *J Periodontol*, 1996, 67: 935-945.
25. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*, 1976, 34.
26. Wilson M, Reddi K, Henderson B. Cytokine-inducing components of periodontopathogenic bacteria. *J Periodontal Res*, 1996, 31: 393-407.
27. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*, 1996, 1: 821-878.
28. Kamma J, Mombelli A, Tsinidou K, Vasdekis V, Giannopoulou C. Cytokines in gingival crevicular fluid of adolescents and young adults. *Oral Microbiol Immunol*, 2009, 24: 7-10.
29. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*, 2001, 25: 8-20.
30. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000*, 1997, 14: 33-53.
31. Holt SC, Bramanti TE. Factors in virulence expression and their role in periodontal disease pathogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1991, 2: 177-281.
32. Hausmann E, Raisz LG, Miller WA. Endotoxin: stimulation of bone resorption in tissue culture. *Science*, 1970, 168: 862-864.
33. Abe T, Hara Y, Aono M. Penetration, clearance and terration of antigen en routine from the gingival sulcus to the draining lymph node of rats. *J Periodontal Res*, 1991, 28: 429-439.
34. Waldrop TC, Anderson DC, Hallmon WW, Schmalsteig FC, Jacops RI. Periodontal manifestation of the heritable MAC-1, LAF-1 deficiency stndrome-clinical histopathologic and molecular characteristics. *J Periodontol*, 1987, 58: 400-416.
35. Horton JE, Oppenheim JJ, Mergenhagen SE. A role for cell-mediated immunity in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol*, 1974, 45: 351-360.
36. Mathur A, Michalowicz BS. Cell-mediated immune system regulation in periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1997, 8: 76-89.
37. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*, 1997, 14: 9-11.
38. Schenkein HA. Host responses in maintaining periodontal health and determining periodontal disease. *Periodontol 2000*, 2006, 40: 77-93.
39. Seymour GJ, Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontol Scand*, 2001, 59: 167-173.
40. Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res*, 1993, 28: 500-510.
41. Mathur A, Michalowicz B, Castillo M, Aeppli D. Interleukin-1 alpha, interleukin-8 and interferon-alpha levels in gingival crevicular fluid. *J Periodontal Res*, 1996, 31: 489-495.
42. Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000*, 2010, 52: 163-206.
43. Takashiba S, Naruishi K, Murayama Y. Perspective of cytokine regulation for periodontal treatment: fibroblast biology. *J Periodontol*, 2003, 74: 103-110.
44. Berglundh T, Liljenberg B, Lindhe J. Some cytokine profiles of T-helper cells in lesions of advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2002, 29: 705-709.
45. Liew FY. T(H)1 and T(H)2 cells: a historical perspective. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2: 55-60.

46. Rossomando EF, Kennedy JE, Hadjimichael J. Tumour necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans. *Arch Oral Biol*, 1990, 35: 431-434.
47. Payne JB, Reinhardt RA, Masada MP, DuBois LM, Allison AC. Gingival crevicular fluid IL-8: correlation with local IL-1 beta levels and patient estrogen status. *J Periodontal Res*, 1993, 28: 451-453.
48. Reinhardt RA, Masada MP, Kaldahl WB, DuBois LM, Kornman KS, Choi JI, Kalkwarf KL, Allison AC. Gingival fluid IL-1 and IL-6 levels in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol*, 1993, 20: 225-231.
49. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000*, 1997, 14: 112-143.
50. Figueredo CM, Ribeiro MS, Fischer RG, Gustafsson A. Increased interleukin-1beta concentration in gingival crevicular fluid as a characteristic of periodontitis. *J Periodontol*, 1999, 70: 1457-1463.
51. Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res*, 1990, 25: 156-163.
52. Stashenko P, Jandinski JJ, Fujiyoshi P, Rynar J, Socransky SS. Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol*, 1991, 62: 504-509.
53. Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. Levels of interleukin-1 beta, -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *J Periodontol*, 2000, 71: 1535-1545.
54. Graves DT, Jiang Y, Genco C. Periodontal disease: bacterial virulence factors, host response and impact on systemic health. *Curr Opin Infect Dis*, 2000, 13: 227-232.
55. Marton IJ, Kiss C. Protective and destructive immune reactions in apical periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*, 2000, 15: 139-150.
56. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol*, 2003, 74: 391-401.
57. Matsumoto M, Mariathasan S, Nahm MH, Baranyay F, Peschon JJ, Chaplin DD. Role of lymphotoxin and the type I TNF receptor in the formation of germinal centers. *Science*, 1996, 271: 1289-1291.
58. Ridderstad A, Abedi-Valugerdi M, Moller E. Cytokines in rheumatoid arthritis. *Ann Med*, 1991, 23: 219-223.
59. Wajant H, Pfeffer K, Pfizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factors in 1998. *Cytokine Growth Factor Rev*, 1998, 9: 297-302.
60. Erdemir EO, Duran I, Haliloglu S. Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF-alpha in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2004, 31: 99-104.
61. Dinarello CA. Interleukin-1 and its biologically related cytokines. *Adv Immunol*, 1989, 44: 153-205.
62. Tatakis DN. Interleukin-1 and bone metabolism: a review. *J Periodontol*, 1993, 64: 416-431.
63. Ebersole JL, Cappelli D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontol 2000*, 2000, 23: 19-49.
64. Heasman PA, Collins JG, Offenbacher S. Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 beta, leukotriene B4, prostaglandin E2, thromboxane B2 and tumour necrosis factor alpha in experimental gingivitis in humans. *J Periodontal Res*, 1993, 28: 241-247.

65. Smith MA, Braswell LD, Collins JG, Boyd DL, Jeffcoat MK, Reddy M, Li KL, Wilensky S, Vogel R, Alfano M, et al. Changes in inflammatory mediators in experimental periodontitis in the rhesus monkey. *Infect Immun*, 1993, 61: 1453-1459.
66. Whicher JT, Evans SW. Cytokines in disease. *Clin Chem*, 1990, 36: 1269-1281.
67. Moshage H. Cytokines and the hepatic acute phase response. *J Pathol*, 1997, 181: 257-266.
68. Feghali CA, Wright TM. Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front Biosci*, 1997, 2: d12-26.
69. Taylor JJ. Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol* 2000, 2010, 54: 160-194.
70. Hirano T, Akira S, Taga T, Kishimoto T. Biological and clinical aspects of interleukin 6. *Immunol Today*, 1990, 11: 443-449.
71. Ishimi Y, Miyaura C, Jin CH, Akatsu T, Abe E, Nakamura Y, Yamaguchi A, Yoshiki S, Matsuda T, Hirano T, et al. IL-6 is produced by osteoblasts and induces bone resorption. *J Immunol*, 1990, 145: 3297-3303.
72. Holla LI, Fassmann A, Stejskalova A, Znojil V, Vanek J, Vacha J. Analysis of the interleukin-6 gene promoter polymorphisms in Czech patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*, 2004, 75: 30-36.
73. Kardesler L, Buduneli N, Cetinkalp S, Lappin D, Kinane DF. Gingival crevicular fluid IL-6, tPA, PAI-2, albumin levels following initial periodontal treatment in chronic periodontitis patients with or without type 2 diabetes. *Inflamm Res*, 2011, 60: 143-151.
74. Saglam M, Kantarci A, Dundar N, Hakki SS. Clinical and biochemical effects of diode laser as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis: a randomized, controlled clinical trial. *Lasers Med Sci*, 2014, 29: 37-46.
75. Thunell DH, Tymkiw KD, Johnson GK, Joly S, Burnell KK, Cavanaugh JE, Brogden KA, Guthmiller JM. A multiplex immunoassay demonstrates reductions in gingival crevicular fluid cytokines following initial periodontal therapy. *J Periodontal Res*, 2010, 45: 148-152.
76. Reis C, AV DAC, Guimaraes JT, Tuna D, Braga AC, Pacheco JJ, Arosa FA, Salazar F, Cardoso EM. Clinical improvement following therapy for periodontitis: Association with a decrease in IL-1 and IL-6. *Exp Ther Med*, 2014, 8: 323-327.
77. de Waal Malefyt R, Yssel H, Roncarolo MG, Spits H, de Vries JE. Interleukin-10. *Curr Opin Immunol*, 1992, 4: 314-320. .
78. Rosen PS, Marks MH, Reynolds MA. Influence of smoking on long-term clinical results of intrabony defects treated with regenerative therapy. *J Periodontol*, 1996, 67: 1159-1163.
79. Asadullah K, Sterry W, Volk HD. Interleukin-10 therapy--review of a new approach. *Pharmacol Rev*, 2003, 55: 241-269.
80. Romagnani S. Biology of human TH1 and TH2 cells. *J Clin Immunol*, 1995, 15: 121-129.
81. Cullinan MP, Westerman B, Hamlet SM, Palmer JE, Faddy MJ, Seymour GJ, Middleton PG, Taylor JJ. Progression of periodontal disease and interleukin-10 gene polymorphism. *J Periodontal Res*, 2008, 43: 328-333.
82. Toker H, Poyraz O, Eren K. Effect of periodontal treatment on IL-1beta, IL-1ra, and IL-10 levels in gingival crevicular fluid in patients with aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2008, 35: 507-513.
83. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol*, 1993, 64: 474-484.

84. McCawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: they're not just for matrix anymore! *Curr Opin Cell Biol*, 2001, 13: 534-540.
85. Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis*, 2004, 10: 311-318.
86. Sanders JS, van Goor H, Hanemaaijer R, Kallenberg CG, Stegeman CA. Renal expression of matrix metalloproteinases in human ANCA-associated glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant*, 2004, 19: 1412-1419.
87. Loos BG, Tjoa S. Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid? *Periodontol 2000*, 2005, 39: 53-72.
88. Keles GC, Gunes S, Sumer AP, Sumer M, Kara N, Bagci H, Koprulu H. Association of matrix metalloproteinase-9 promoter gene polymorphism with chronic periodontitis. *J Periodontol*, 2006, 77: 1510-1514.
89. Birkedal HH. Host mediated extracellular matrix destruction by metalloproteinases in "Molecular pathogenesis of periodontal disease". 3 Bask1. Washington DC, American Society for Microbiology, 1994: 191-7.
90. Bjorklund M, Koivunen E. Gelatinase-mediated migration and invasion of cancer cells. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1755: 37-69.
91. Westerlund U, Ingman T, Lukinmaa PL, Salo T, Kjeldsen L, Borregaard N, Tjaderhane L, Konttinen YT, Sorsa T. Human neutrophil gelatinase and associated lipocalin in adult and localized juvenile periodontitis. *J Dent Res*, 1996, 75: 1553-1563.
92. Ma J, Kitti U, Hanemaaijer R, Teronen OP, Sorsa TA, Natah S, Tensing EK, Konttinen YT. Gelatinase B is associated with peri-implant bone loss. *Clin Oral Implants Res*, 2003, 14: 709-713.
93. Makela M, Salo T, Uitto VJ, Larjava H. Matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) of the oral cavity: cellular origin and relationship to periodontal status. *J Dent Res*, 1994, 73: 1397-1406.
94. Beklen A, Laine M, Venta I, Hyrkas T, Konttinen YT. Role of TNF-alpha and its receptors in pericoronitis. *J Dent Res*, 2005, 84: 1178-1182.
95. Beklen A, Tuter G, Sorsa T, Hanemaaijer R, Virtanen I, Tervahartiala T, Konttinen YT. Gingival tissue and crevicular fluid co-operation in adult periodontitis. *J Dent Res*, 2006, 85: 59-63.
96. Reynolds JJ, Meikle MC. Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. *Periodontol 2000*, 1997, 14: 144-157.
97. Lee W, Aitken S, Sodek J, McCulloch CA. Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *J Periodontol*, 1995, 30: 23-33.
98. Ejeil AL, Igondjo-Tchen S, Ghomrasseni S, Pellat B, Godeau G, Gogly B. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in healthy and diseased human gingiva. *J Periodontol*, 2003, 74: 188-195.
99. Romanelli R, Mancini S, Laschinger C, Overall CM, Sodek J, McCulloch CA. Activation of neutrophil collagenase in periodontitis. *Infect Immun*, 1999, 67: 2319-2326.
100. Nomura T, Ishii A, Oishi Y, Kohma H, Hara K. Tissue inhibitors of metalloproteinases level and collagenase activity in gingival crevicular fluid: the relevance to periodontal diseases. *Oral Dis*, 1998, 4: 231-240.
101. Kiili M, Cox SW, Chen HY, Wahlgren J, Maisi P, Eley BM, Salo T, Sorsa T. Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis:

- molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *J Clin Periodontol*, 2002, 29: 224-232.
102. Kinane DF, Darby IB, Said S, Luoto H, Sorsa T, Tikanoja S, Mantyla P. Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance. *J Periodontol Res*, 2003, 38: 400-404.
 103. Mantyla P, Stenman M, Kinane DF, Tikanoja S, Luoto H, Salo T, Sorsa T. Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodontol Res*, 2003, 38: 436-439.
 104. Lamster IB, Ahlo JK. Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1098: 216-229.
 105. Pollanen MT, Salonen JI, Uitto VJ. Structure and function of the tooth-epithelial interface in health and disease. *Periodontol 2000*, 2003, 31: 12-31.
 106. Armitage GC. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontol 2000*, 2004, 34: 109-119.
 107. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontol 2000*, 2003, 31: 43-54.
 108. Ebersole JL. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontol 2000*, 2003, 31: 135-166.
 109. Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*, 2003, 31: 55-76.
 110. Alfano J. The origin of gingival fluid. *Journal of Theoretical Biology*, 1974, 47: 127-136.
 111. Pashley DH. A mechanistic analysis of gingival fluid production. *J Periodontol Res*, 1976, 11: 121-134.
 112. Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*, 2003, 31: 77-104.
 113. Armitage GC. Periodontal diseases: diagnosis. *Ann Periodontol*, 1996, 1: 37-215.
 114. Bulkacz J, Carranza FA. Defense mechanisms of the gingiva. İçinde: Newman MG, Takei HH, Carranza FA (editörler). *Clinical Periodontology*, 9th Baskı. New York, WB Saunders Company, 2002: 254-262.
 115. Tsuchida K, Hara K. Clinical significance of gingival fluid measurement by "Periotron". *J Periodontol*, 1981, 52: 697-700.
 116. Egelberg J, Attstrom R. Comparison between orifice and intracrevicular methods of sampling gingival fluid. *J Periodontol Res*, 1973, 8: 384-388.
 117. Tuter G, Kurtis B, Serdar M. Effects of phase I periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1. *J Periodontol*, 2002, 73: 487-493.
 118. Ozkavaf A, Aras H, Huri CB, Mottaghian-Dini F, Tozum TF, Etikan I, Yamalik N, Caglayan F. Relationship between the quantity of gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. *J Oral Sci*, 2000, 42: 231-238.
 119. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*, 2003, 31: 32-42.
 120. Axelsson P, Lindhe J. The effect of a preventive programme on dental plaque, gingivitis and caries in schoolchildren. Results after one and two years. *J Clin Periodontol*, 1974, 1: 126-138.
 121. Cobb CM. Non-surgical pocket therapy: mechanical. *Ann Periodontol*, 1996, 1: 443-490.
 122. Lightner LM, O'Leary TJ, Drake RB. Preventive periodontics treatment procedures: results over 46 months. *J Periodontol*, 1971, 42: 555-561.
 123. Lindhe J, Koch G. The effect of supervised oral hygiene on the gingiva of children. Progression and inhibition of gingivitis. *J Periodontol Res*, 1966, 1: 260-267.

124. Suomi JD, Greene JC, Vermillion JR, Doyle J, Chang JJ, Leatherwood EC. The effect of controlled oral hygiene procedures on the progression of periodontal disease in adults: results after third and final year. *J Periodontol*, 1971, 42: 152-160.
125. Badersten A, Nilveus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. I. Moderately advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*, 1981, 8: 57-72.
126. Umeda M, Takeuchi Y, Noguchi K, Huang Y, Koshy G, Ishikawa I. Effects of nonsurgical periodontal therapy on the microbiota. *Periodontol 2000*, 2004, 36: 98-120.
127. Pawlowski AP, Chen A, Hacker BM, Mancl LA, Page RC, Roberts FA. Clinical effects of scaling and root planing on untreated teeth. *J Clin Periodontol*, 2005, 32: 21-28.
128. Tezal M, Scannapieco FA, Wactawski-Wende J, Grossi SG, Genco RJ. Supragingival plaque may modify the effects of subgingival bacteria on attachment loss. *J Periodontol*, 2006, 77: 808-813.
129. Walter C, Weiger R. Antibiotics as the only therapy of untreated chronic periodontitis: a critical commentary. *J Clin Periodontol*, 2006, 33: 938-939; author reply 940-931.
130. Kalaitzakis CJ, Tynelius-Bratthall G, Attstrom R. Clinical and microbiological effects of subgingival application of a chlorhexidine gel in chronic periodontitis. A pilot study. *Swed Dent J*, 1993, 17: 129-137.
131. Garrett S, Johnson L, Drisko CH, Adams DF, Bandt C, Beiswanger B, Bogle G, Donly K, Hallmon WW, Hancock EB, Hanes P, Hawley CE, Kiger R, Killoy W, Mellonig JT, Polson A, Raab FJ, Ryder M, Stoller NH, Wang HL, Wolinsky LE, Evans GH, Harrold CQ, Arnold RM, Southard GL, et al. Two multi-center studies evaluating locally delivered doxycycline hyclate, placebo control, oral hygiene, and scaling and root planing in the treatment of periodontitis. *J Periodontol*, 1999, 70: 490-503.
132. Vinholis AH, Figueiredo LC, Marcantonio Junior E, Marcantonio RA, Salvador SL, Goissis G. Subgingival utilization of a 1% chlorhexidine collagen gel for the treatment of periodontal pockets. A clinical and microbiological study. *Braz Dent J*, 2001, 12: 209-213.
133. Jolkovsky DL, Ciancio SG. Chemotherapeutic agents in the treatment of periodontal disease. Baski. Philadelphia, W.B. Saunders, 2002: 677-687.
134. Tomasi C, Wennstrom JL. Full-mouth treatment vs. the conventional staged approach for periodontal infection control. *Periodontol 2000*, 2009, 51: 45-62.
135. Yilmaz S, Algan S, Gursoy H, Noyan U, Kuru BE, Kadir T. Evaluation of the clinical and antimicrobial effects of the Er:YAG laser or topical gaseous ozone as adjuncts to initial periodontal therapy. *Photomed Laser Surg*, 2013, 31: 293-298.
136. Huth KC, Quirling M, Lenzke S, Paschos E, Kamereck K, Brand K, Hickel R, Ilie N. Effectiveness of ozone against periodontal pathogenic microorganisms. *Eur J Oral Sci*, 2011, 119: 204-210.
137. Hauser-Gerspach I, Vadaszan J, Deronjic I, Gass C, Meyer J, Dard M, Waltimo T, Stubinger S, Mauth C. Influence of gaseous ozone in peri-implantitis: bactericidal efficacy and cellular response. An in vitro study using titanium and zirconia. *Clin Oral Investig*, 2012, 16: 1049-1059.
138. Eick S, Tigan M, Sculean A. Effect of ozone on periodontopathogenic species--an in vitro study. *Clin Oral Investig*, 2012, 16: 537-544.
139. Bocci V. How ozone acts and how it exerts therapeutic effects. In: Lynch E (Eds). *Ozone: The revolution in dentistry*. Baski. Copenhagen, London, Berlin, Chicago,

- Paris, Milan, Barcelona, Istanbul, Sao Paulo, Tokyo, New Delhi, Moscow, Prague, Warsaw, Quintessence Publishing Co, 2004: 15-22.
140. Rowland FS. Stratospheric ozone depletion. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2006, 361: 769-790.
 141. Bocci V. Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators Inflamm*, 2004, 13: 3-11.
 142. Bocci V. Ozone. A new medical drug. Baskı. Dordrecht, the Netherlands, Springer, 2005: 1-295.
 143. Dohan JM, W.J. M. Photochemical generation of ozone: Present state-of-the-art. *Ozone Sci Eng*, 1987, 9: 315-334.
 144. Rodrigues KL, Cardoso CC, Caputo LR, Carvalho JC, Fiorini JE, Schneedorf JM. Cicatrizing and antimicrobial properties of an ozonised oil from sunflower seeds. *Inflammopharmacology*, 2004, 12: 261-270.
 145. Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Arch Med Res*, 2006, 37: 425-435.
 146. Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Lage-Marques JL. Ozone therapy in medicine and dentistry. *J Contemp Dent Pract*, 2008, 9: 75-84.
 147. Madej P, Plewka A, Madej JA, Nowak M, Plewka D, Franik G, Golka D. Ozonotherapy in an induced septic shock. I. Effect of ozonotherapy on rat organs in evaluation of free radical reactions and selected enzymatic systems. *Inflammation*, 2007, 30: 52-58.
 148. Bocci V. Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2006, 216: 493-504.
 149. Anitua E, Zalduendo MM, Troya M, Orive G. Ozone dosing alters the biological potential and therapeutic outcomes of plasma rich in growth factors. *J Periodontal Res*, 2015, 50: 240-247.
 150. Valacchi G, Fortino V, Bocci V. The dual action of ozone on the skin. *Br J Dermatol*, 2005, 153: 1096-1100.
 151. Bocci V. The case for oxygen-ozonotherapy. *Br J Biomed Sci*, 2007, 64: 44-49.
 152. Stubinger S, Sader R, Filippi A. The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a review. *Quintessence Int*, 2006, 37: 353-359.
 153. Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone 1. Induction of interferon gamma on human leucocytes. *Haematologica*, 1990, 75: 510-515.
 154. Paulesu L, Luzzi E, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 2. Induction of tumor necrosis factor (TNF-alpha) on human leucocytes. *Lymphokine Cytokine Res*, 1991, 10: 409-412.
 155. Azarpazhooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *J Dent*, 2008, 36: 104-116.
 156. Polydorou O, Halili A, Wittmer A, Pelz K, Hahn P. The antibacterial effect of gas ozone after 2 months of in vitro evaluation. *Clin Oral Investig*, 2012, 16: 545-550.
 157. Huth KC, Jakob FM, Saugel B, Cappello C, Paschos E, Hollweck R, Hickel R, Brand K. Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. *Eur J Oral Sci*, 2006, 114: 435-440.
 158. Grootveld M, Baysan A, Sidiiqui N, Sim J, Silwood C, Lynch E. History of the clinical applications of ozone. In: Lynch E (Eds). *Ozone: The Revolution Dentistry*. Baskı. Copenhagen, London, Berlin, Chicago, Paris, Milan, Barcelona, Istanbul, Sao Paulo, Tokyo, New Delhi, Moscow, Prague, Warsaw, Quintessence Publishing Co., 2004: 23-30.
 159. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol*, 1999, 86: 985-990.

160. Sechi LA, Spanu T, Sanguinetti M, Dupre I, Masucci L, Siddu A, Tortorolo G, Vento G, Maggio L, Cambieri A, Zanetti S, Fadda G. Molecular analysis of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in pediatric wards by ribotyping, pulsed field gel electrophoresis and antimicrobial susceptibilities. *New Microbiol*, 2001, 24: 35-45.
161. Huth KC, Paschos E, Brand K, Hickel R. Effect of ozone on non-cavitated fissure carious lesions in permanent molars. A controlled prospective clinical study. *Am J Dent*, 2005, 18: 223-228.
162. Muller P, Guggenheim B, Schmidlin PR. Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm in vitro. *Eur J Oral Sci*, 2007, 115: 77-80.
163. Estrela C, Estrela CR, Decurcio Dde A, Silva JA, Bammann LL. Antimicrobial potential of ozone in an ultrasonic cleaning system against *Staphylococcus aureus*. *Braz Dent J*, 2006, 17: 134-138.
164. Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *J Endod*, 2004, 30: 778-781.
165. Suzuki T, Oizumi M, Furuya J, Okamoto Y, Rosenstiel SF. Influence of ozone on oxidation of dental alloys. *Int J Prosthodont*, 1999, 12: 179-183.
166. Kshitish D, Laxman VK. The use of ozonated water and 0.2% chlorhexidine in the treatment of periodontitis patients: a clinical and microbiologic study. *Indian J Dent Res*, 2010, 21: 341-348.
167. Dhingra K, Vandana KL. Management of gingival inflammation in orthodontic patients with ozonated water irrigation--a pilot study. *Int J Dent Hyg*, 2011, 9: 296-302.
168. Ramzy MI, gomaa he, Mostafa MI, zaki bm. management of aggressive periodontitis using ozonized water. *Egypt. Med. J. N. R. C.*, 2005, 6: 229-245.
169. Hayakumo S, Arakawa S, Mano Y, Izumi Y. Clinical and microbiological effects of ozone nano-bubble water irrigation as an adjunct to mechanical subgingival debridement in periodontitis patients in a randomized controlled trial. *Clin Oral Investig*, 2013, 17: 379-388.
170. Nagayoshi M, Fukuizumi T, Kitamura C, Yano J, Terashita M, Nishihara T. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiol Immunol*, 2004, 19: 240-246.
171. Ebersberger U, Pohl Y, Filippi A. PCNA-expression of cementoblasts and fibroblasts on the root surface after extraoral rinsing for decontamination. *Dent Traumatol*, 2002, 18: 262-266.
172. Bocci V. HOW DOES OZONE ACT? HOW AND WHY CAN WE AVOID OZONE TOXICITY? Baskı. Springer Netherlands, 2005: 40-9.
173. Algan S. Kronik periodontitis hastalarında başlangıç periodontal tedaviye yardımcı olarak kullanılan Er:YAG lazer ve topikal gaz ozon uygulamasının klinik ve mikrobiyolojik olarak karşılaştırmalı değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji Anabilim Dalı. İstanbul: Yeditepe Üniversitesi, 2011.
174. BEKTAŞ M. Kronik periodontitisli hastalarda başlangıç periodontal tedaviye yardımcı olarak kullanılan sistemik antibiyotik ve topikal gaz ozon uygulamasının klinik ve mikrobiyolojik etkinliğinin değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji Anabilim Dalı. İstanbul: Yeditepe Üniversitesi, 2013.
175. Dupont WD, Plummer WD. PS power and sample size calculations. Version 3.0. 18 Feb.

176. Silness J, Loe H. Periodontal Disease in Pregnancy. II. Correlation between Oral Hygiene and Periodontal Condition. *Acta Odontol Scand*, 1964, 22: 121-135.
177. Loe H, Silness J. Periodontal Disease in Pregnancy. I. Prevalence and Severity. *Acta Odontol Scand*, 1963, 21: 533-551.
178. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*, 1975, 25: 229-235.
179. Rudin HJ, Overdiek HF, Rateitschak KH. Correlation between sulcus fluid rate and clinical and histological inflammation of the marginal gingiva. *Helv Odontol Acta*, 1970, 14: 21-26.
180. Dilsiz A, Kilic N, Aydin T, Ates FN, Zihni M, Bulut C. Leptin levels in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement. *Angle Orthod*, 2010, 80: 504-508.
181. Apatzidou DA, Kinane DF. Quadrant root planing versus same-day full-mouth root planing. I. Clinical findings. *J Clin Periodontol*, 2004, 31: 132-140.
182. Apatzidou DA, Riggio MP, Kinane DF. Quadrant root planing versus same-day full-mouth root planing. II. Microbiological findings. *J Clin Periodontol*, 2004, 31: 141-148.
183. Zijlstra V, Meijer HF, Lie MA, Tromp JA, Degener JE, Harmsen HJ, Abbas F. The recolonization hypothesis in a full-mouth or multiple-session treatment protocol: a blinded, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*, 2010, 37: 518-525.
184. Badersten A, Nilveus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*, 1984, 11: 63-76.
185. Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL, Jr., Socransky SS. Clinical and microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planing. *J Clin Periodontol*, 1997, 24: 767-776.
186. Lindhe J, Westfelt E, Nyman S, Socransky SS, Haffajee AD. Long-term effect of surgical/non-surgical treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 1984, 11: 448-458.
187. Jervoe-Storm PM, AlAhdab H, Semaan E, Fimmers R, Jepsen S. Microbiological outcomes of quadrant versus full-mouth root planing as monitored by real-time PCR. *J Clin Periodontol*, 2007, 34: 156-163.
188. Haerian A, Adonogianaki E, Mooney J, Manos A, Kinane DF. Effects of treatment on gingival crevicular collagenase, stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinases and their ability to predict response to treatment. *J Clin Periodontol*, 1996, 23: 83-91.
189. Chen HY, Cox SW, Eley BM, Mantyla P, Ronka H, Sorsa T. Matrix metalloproteinase-8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol*, 2000, 27: 366-369.
190. Tuter G, Kurtis B, Serdar M. Interleukin-1beta and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*, 2001, 72: 883-888.
191. Tuter G, Kurtis B, Serdar M, Yucel A, Ayhan E, Karaduman B, Ozcan G. Effects of phase I periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1. *J Clin Periodontol*, 2005, 32: 1011-1015.
192. Griffiths GS, Sterne JA, Wilton JM, Eaton KA, Johnson NW. Associations between volume and flow rate of gingival crevicular fluid and clinical assessments of gingival inflammation in a population of British male adolescents. *J Clin Periodontol*, 1992, 19: 464-470.

193. Segelnick SL, Weinberg MA. Reevaluation of initial therapy: when is the appropriate time? *J Periodontol*, 2006, 77: 1598-1601.
194. Marcaccini AM, Meschiari CA, Zuardi LR, de Sousa TS, Taba M, Jr., Teofilo JM, Jacob-Ferreira AL, Tanus-Santos JE, Novaes AB, Jr., Gerlach RF. Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. *J Clin Periodontol*, 2010, 37: 180-190.
195. Calderin S, Garcia-Nunez JA, Gomez C. Short-term clinical and osteoimmunological effects of scaling and root planing complemented by simple or repeated laser phototherapy in chronic periodontitis. *Lasers Med Sci*, 2013, 28: 157-166.
196. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1beta and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent*, 2004, 32: 511-520.
197. Pourabbas R, Kashefimehr A, Rahmanpour N, Babaloo Z, Kishen A, Tenenbaum HC, Azarpazhooh A. Effects of photodynamic therapy on clinical and gingival crevicular fluid inflammatory biomarkers in chronic periodontitis: a split-mouth randomized clinical trial. *J Periodontol*, 2014, 85: 1222-1229.
198. Ikezawa-Suzuki I, Shimada Y, Tai H, Komatsu Y, Tanaka A, Yoshie H. Effects of treatment on soluble tumour necrosis factor receptor type 1 and 2 in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2008, 35: 961-968.
199. Javed F, Kellesarian SV, Al-Kheraif AA, Ranna V, Qadri T, Yunker M, Malmstrom H, Romanos GE. Effect of Nd:YAG laser-assisted non-surgical periodontal therapy on clinical periodontal and serum biomarkers in patients with and without coronary artery disease: A short-term pilot study. *Lasers Surg Med*, 2016.
200. D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Suvan J, Tonetti MS. Short-term effects of intensive periodontal therapy on serum inflammatory markers and cholesterol. *J Dent Res*, 2005, 84: 269-273.
201. D'Aiuto F, Parkar M, Tonetti MS. Acute effects of periodontal therapy on biomarkers of vascular health. *J Clin Periodontol*, 2007, 34: 124-129.
202. Ide M, Jagdev D, Coward PY, Crook M, Barclay GR, Wilson RF. The short-term effects of treatment of chronic periodontitis on circulating levels of endotoxin, C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6. *J Periodontol*, 2004, 75: 420-428.
203. Marcaccini AM, Novaes AB, Jr., Meschiari CA, Souza SL, Palioto DB, Sorgi CA, Faccioli LH, Tanus-Santos JE, Gerlach RF. Circulating matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and MMP-9 are increased in chronic periodontal disease and decrease after non-surgical periodontal therapy. *Clin Chim Acta*, 2009, 409: 117-122.
204. Fentoglu O, Kirzioglu FY, Ozdem M, Kocak H, Sutcu R, Sert T. Proinflammatory cytokine levels in hyperlipidemic patients with periodontitis after periodontal treatment. *Oral Dis*, 2012, 18: 299-306.
205. Behle JH, Sedaghatfar MH, Demmer RT, Wolf DL, Celenti R, Keschull M, Belusko PB, Herrera-Abreu M, Lalla E, Papapanou PN. Heterogeneity of systemic inflammatory responses to periodontal therapy. *J Clin Periodontol*, 2009, 36: 287-294.
206. Katti SS, Chava VK. Effect of Ozonised water on Chronic Periodontitis - A Clinical Study. *J Int Oral Health*, 2013, 5: 79-84.
207. Dodwad v, Gupta s, Kumar k, Sethi m, Masamatti s. Changing paradigm in pocket therapy-ozone vs. conventional irrigation. *International Journal of Public Health Dentistry*, 2011, 2: 7-12.

208. Skurska A, Pietruska MD, Paniczko-Drezek A, Dolinska E, Zelazowska-Rutkowska B, Zak J, Pietruski J, Milewski R, Wysocka J. Evaluation of the influence of ozonotherapy on the clinical parameters and MMP levels in patients with chronic and aggressive periodontitis. *Adv Med Sci*, 2010, 55: 297-307.
209. Al Habashneh R, Alsalman W, Khader Y. Ozone as an adjunct to conventional nonsurgical therapy in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontal Res*, 2015, 50: 37-43.
210. Bocci V. Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2006, 216: 493-504.



EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı soyadı: Sema Nur SEVİNÇ Doğum Tarihi: 31.05.1989 Doğum Yeri: BURSA Medeni Hali: Bekar Uyruğu: T.C. Adres: Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, 25240, Erzurum Tel: 0507 9910007/ 0442 2133563
Eğitim
Lise: Bursa Gazi Anadolu Lisesi, Bursa (2003-2007) Lisans: Selçuk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Konya (2007-2012) Uzmanlık: Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Erzurum (2013-2016)
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce (Orta seviye)
İlgi alanları ve Hobiler
Spor yapmak, kitap okumak, seyahat etmek

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞHEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ETİK KURULU

Sayı : 24

13/10/ 2014

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

24.09.2014 tarihli yazınız ekinde gönderilen, Periodontoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Alpaslan DİLSİZ danışmanlığında Arş. Gör. Dt. Sema Nur SEVİNÇ'in yürüteceği "**Kronik periodontitisli bireylerde cerrahi olmayan periodontal tedavi ile aköz ozon uygulamasının klinik parametreler ve inflamatuvar belirteç düzeylerine etkileri**" isimli uzmanlık tez çalışması ile ilgili etik kurul başvurusu kurulumuz tarafından incelenmiş olup, konu ile ilgili alınan karar aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinizi arz ve rica ederim.



Prof. Dr. Abubekir HARORLI
Etik Kurul Başkanı

Oturum Tarihi: 13.10.2014

Oturum Sayısı: 08/2014

KARAR No: 24/2014. Periodontoloji Anabilim Dalı Başkanlığının 24.09.2014 tarihli yazısı okunarak kurul üyelerinin bilgisine sunuldu.

Periodontoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Alpaslan DİLSİZ danışmanlığında Arş. Gör. Dt. Sema Nur SEVİNÇ'in yürüteceği "**Kronik periodontitisli bireylerde cerrahi olmayan periodontal tedavi ile aköz ozon uygulamasının klinik parametreler ve inflamatuvar belirteç düzeylerine etkileri**" isimli uzmanlık tez çalışması ile ilgili etik kurul başvurusu kurulumuz tarafından incelendi.

Yapılan görüşmeler sonucunda; Sağlık Bakanlığı tarafından yayımlanan 19 Ağustos 2011 tarih ve 28030 sayılı "Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik" hükümlerine bağlı kalınarak yapılacak çalışmanın etik kurallara uygun olduğu kanaatine varıldı (oy birliği).

EK-3. PERİODONTAL MUAYENE FORMU

Grup:..... Grup No: / 25
Katılımcı Adı-Soyadı:.....
Doğum Tarihi:.....
Cinsiyet:
Meslek:
Tel No:.....
Adres:
.....

Tarih:/..../201...

PLAK İNDEKSİ (Silness& Loe)

8.H														
B														
	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7
B														
8.H														

GINGİVAL İNDEKS (Loe&Silness)

8.H														
B														
	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7
B														
8.H														

SONDALAMADA CEP DERİNLİĞİ

8.H														
B														
	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7
B														
8.H														

SONDALAMADA KANAMA(Ainamo&Bay)

8.H														
B														
	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7
B														
8.H														

KLİNİK ATAÇMAN SEVİYESİ

8.H														
B														
	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7
B														
8.H														

EK.4.HASTA BİLGİLENDİRME VE ONAM FORMU

Kronik periodontitis hastalığında görülen periodonsiyum iltihabının tedavisinde ozonun katkılarını bulmak üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi ‘Kronik periodontitisli bireylerde cerrahi olmayan periodontal tedavi ile ozon uygulamasının klinik parametreler ve inflamatuvar belirteç düzeylerine etkileri’ dir.

Sizin bu çalışmaya katılmanızı öneriyoruz. Bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayanır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni sizde bu hastalığın bulunması ve henüz bir tedavi almamış olmanızdır. Size gerekli tetkikleri ve rutin muayenemiz yaptıktan sonra kan ve dişeti sıvısı numunenizi alacağız ve klasik periodontal tedavi ile gaz ozon uygulayacağız.

Bu işlemler sizlere rahatsızlık vermeyip, herhangi bir riski olmadığı gibi en etkili tedavi şeklinin belirlenmesinde bilime katkıda bulunacaksınız.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir.

Çalışmaya katıldığınız için size ödeme yapılmayacaktır.

Bu belge ile araştırmaya kendi rızanız ile katıldığınızı beyan etmektesiniz.

Araştırmayı red etme, araştırma başladıktan sonrada devam etmeme haklarına sahiptir. Ancak bu araştırmaya gönüllü olarak katılmayı kabul etmediğinizde veya araştırma dışı bırakıldığınız durumlarda da size uygulanacak tedavi girişimlerinde herhangi bir değişiklik olmayacaktır.

Çalışmamıza toplam 50 kişi katılacaktır.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarda söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün;

Adı, soyadı, imzası

Adresi-Tlf no

Velayet veya vesaret altında bulunanlar için veli veya vasiinin

Adı, soyadı, imzası ve adresi-Tlf no

Açıklamaları yapan

Araştırmacının adı, soyadı ve imzası

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı, soyadı, imzası ve görevi

Tarih/Protokol no