

KRONİK PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA
BAŞLANGIÇ TEDAVİSİ İLE BİRLİKTE KULLANILAN
NON-STEROİDAL ANTI-ENFLAMATUVAR İLACIN
(TENOXİCAM) DİŞETİ OLUĞU SIVISI MMP-8 VE
TNF-ALFA DÜZEYLERİNE ETKİSİ

ÖZGÜR ÖZGÖREN

DOKTORA TEZİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
2010

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KRONİK PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA BAŞLANGIÇ
TEDAVİSİ İLE BİRLİKTE KULLANILAN NON-STEROİDAL
ANTİ-ENFLAMATUVAR İLACIN (TENOXİCAM) DİŞETİ
OLUĞU SIVISI MMP-8 VE TNF-ALFA DÜZEYLERİNE
ETKİSİ

Dt. ÖZGÜR ÖZGÖREN

DOKTORA TEZİ

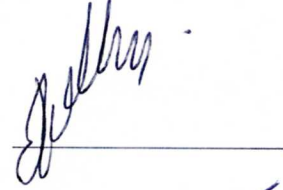
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
YRD.DOÇ.DR. HAKAN DEVELİOĞLU

SİVAS
2010

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Periodontoloji Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Ezel BERKER



Üye Doç. Dr. Rüştü GEDİK



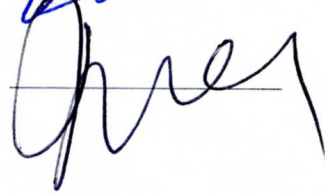
Üye Doç. Dr. Hülya TOKER



Üye Yrd. Doç. Dr. Aysun AKPINAR



Üye (Danışman) Yrd. Doç. Dr. Hakan DEVELİOĞLU



ONAY

Bu tez çalışması, 28 / 05 /2010 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Eijen Kaya TEMİZ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 007 sayılı toplantısında kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

Doktora öğrenimim boyunca bana gösterdikleri anlayış ve her türlü destek için; anneme, babama ve eşime,

Tez çalışmalarım boyunca verdiği bilgi ve destek için danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Hakan DEVELİOĞLU'na,

Tez çalışmalarım esnasında bilgi ve desteğini esirgemeyen hocam Prof. Dr. Ezel BERKER'e,

Analizlerin yapılması esnasındaki değerli yardımlarından dolayı, Dr. Abdullah C. AKMAN ve Dr. Güliz GÜNCÜ'ye,

Tezimin istatistiksel analizlerinin yapılmasındaki değerli yardımları için Yrd. Doç. Dr. Ziyet Çınar'a,

C.Ü Periodontoloji A.D' ndaki diğer hocalarıma ve bölüm çalışanlarına,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

KRONİK PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA BAŞLANGIÇ TEDAVİSİ İLE BİRLİKTE KULLANILAN NON-STEROİDAL ANTI-ENFLAMATUVAR İLACIN (TENOXİCAM) DIŞETİ OLUĞU SIVISI MMP-8 VE TNF-ALFA DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Özgür ÖZGÖREN

Doktora Tezi, Periodontoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hakan DEVELİOĞLU

2010, 85 sayfa

Bu araştırmada kronik periodontitisli, sistemik yönden sağlıklı hastalarda başlangıç periodontal tedavisi ve ona ek olarak verilen tenoxicam etken maddeli non-steroidal anti-enflamatuvar ilacın (NSAI) dişeti oluşu sıvısı MMP-8 ve TNF- α düzeyleri üzerine olan etkileri izlenmeye çalışılmış, kontrol grubu olarak hem sistemik hem de periodontal açıdan sağlıklı bireyler alınmıştır. Ayrıca, periodontal klinik indekslerle, MMP-8 ve TNF- α aktivite düzeyleri arasındaki korelasyon değerlendirilmiştir. Çalışmaya katılan 22'si kadın, 26'sı erkek toplam 48 birey 3 gruba ayrıldı. 1) Faz I + NSAI, 2) Faz I + Plasebo, 3) Sağlıklı grup. Hastalardan periodontal durumun değerlendirilmesi amacıyla plak indeksi (PI), gingival indeks (GI), dişeti kanama zamanı indeksi (DKZI), sondlama cep derinliği (SCD) ve ataşman seviyesi (AS) ölçümleri, ayrıca her hastadan dişeti oluşu sıvısı (DOS) MMP-8 ve TNF- α düzeyi tespiti için DOS örnekleri tedavi öncesinde alındı. Bu işlemler tedavi sonrası 10. günde tekrarlandı. Verilerin istatistiksel analizinde Kruskal Wallis testi, Mann Whitney U testi ve korelasyon analizinden faydalanılmıştır.

Çalışma sonucunda; deney gruplarında, tedavi sonrası AS dışında klinik parametrelerdeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Ancak ilaç ve plasebo grupları arasındaki fark anlamsızdı ($p>0,05$). İlaç grubu DOS MMP-8 düzeylerinde tedavi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalma tespit edilirken ($p<0,05$), plasebo grubundaki azalma anlamlı bulunamadı ($p>0,05$). Tedavi sonrası TNF- α DOS düzeyindeki düşüş, her iki grup için de istatistiksel olarak anlamsızdı ($p>0,05$). Sağlıklı grupla karşılaştırıldığında tedavi sonrası her iki grubun da MMP-8

değerleri, sağlıklı gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$). TNF- α değerleri içinse gruplar arası farklılık bulunamadı ($p>0,05$).

Bu araştırmada, 10 gün süreyle kullanılan NSAİ'nin (tenoxicam) kronik periodontitis hastalarında, DOS MMP-8 seviyesi üzerinde başlangıç tedavisine ek, olumlu bir etkiye sahip olduğu ve NSAİ'lerin periodontal tedaviye ek yarar sağlayabileceği yolunda veriler elde edildi.

Anahtar Kelimeler: MMP-8, TNF- α , kronik periodontitis, anti-enflamatuvar ilaç

ABSTRACT

THE EFFECT OF USING NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUG (TENOXICAM) ACCOMPANIED BY PHASE I PERIODONTAL TREATMENT ON GINGIVAL CREVICULAR FLUID LEVELS OF MMP-8 AND TNF- α IN PATIENTS WITH CHRONIC PERIODONTITIS

Özgür ÖZGÖREN

Postgraduate Thesis, Department of Periodontology

Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Hakan DEVELİOĞLU

2010, 85 pages

In this study, it was aimed to determine the effect of phase I periodontal treatment accompanied by a NSAID (tenoxicam) on gingival crevicular fluid (GCF) MMP-8 and TNF- α levels from patients with chronic periodontitis. Both systemically and periodontally healthy people were included as a control group. Moreover, the correlation between the clinical indices and MMP-8, TNF- α levels was assessed. In total, 48 people (22 women, 26 men) who participated in this study, were divided into 3 groups: 1) Phase I + NSAID, 2) Phase I + Placebo, 3) Group of healthy individuals. On the purpose of the evaluation of periodontal situation; plaque index (PI), gingival index (GI), gingival bleeding time index (GBTI), probing depth (PD) and clinical attachment level (CAL) measurements and also GCF samples which were collected to determine the MMP-8 and TNF- α levels, were taken from each patient before treatment. These procedures were repeated on the 10th day after treatment. Kruskal Wallis, Mann Whitney-U and Correlation analyze tests were used for statistical analysis.

At the end of the study, in the experimental groups, the decrease of clinical parameters except attachment level, was statistically significant ($p < 0,05$). But the difference between the NSAID and the placebo group was not significant ($p > 0,05$). Although a significant decrease was observed in the NSAID group for GCF MMP-8 levels ($p < 0,05$), placebo group did not show a significant difference after the treatment ($p > 0,05$). After treatment, the decrease of GCF TNF- α levels was statistically insignificant ($p > 0,05$) for both NSAID and placebo groups. It was found out that;

compared with the healthy group, MMP-8 values of both NSAID and placebo group were higher after the treatment ($p < 0,05$). There was no significant difference between the groups for the values of TNF- α ($p > 0,05$).

Data obtained from this study showed that NSAID (tenoxicam) administration accompanied by phase I treatment, for 10 days, has an additional effect on GCF MMP-8 level in chronic periodontitis patients and suggested that adjunctive use of NSAIDs to conventional periodontal therapy may be beneficial.

Keywords: MMP-8, TNF- α , chronic periodontitis, anti-inflammatory drug

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1 GİRİŞ.....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Kronik Periodontitis.....	4
2.2 Dişeti Oluğu Sıvısı(DOS).....	7
2.2.1 DOS Toplama Yöntemleri.....	10
2.2.2 DOS Toplanmasında Karşılaşılan Problemler.....	11
2.3 Sitokinler.....	11
2.3.1 TNF- α	13
2.4 Enzimler.....	14
2.4.1 Matriks Metalloproteinazlar ve Patogenezdeki Önemi.....	15
2.4.2 Matriks Metalloproteinaz 8 (MMP-8).....	19
2.5 Periodontal Hastalıkların Tedavisi.....	20
2.5.1 Non-steroidal Anti-enflamatuvar İlaçlar.....	21
3 MATERYAL METOD.....	23
3.1 Hasta Seçimi ve Çalışma Planı.....	23
3.2 Klinik İndeks ve Ölçümler.....	24
3.3 Diş Eti Oluğu Sıvısının Örneklenmesi.....	25
3.4 Periodontal Tedavi.....	26
3.5 Tümör Nekrozis Faktör-Alfa (TNF- α) Seviyelerinin ELISA ile Tespiti.....	26
3.5.1 Human TNF- α Reaktiflerin Hazırlanması.....	26
3.5.2 Örneklerin Hazırlanması.....	26
3.5.3 Test Protokolü.....	27
3.5.4 Sonuçların Değerlendirilmesi.....	27
3.6 MMP-8 Seviyelerinin ELISA ile Tespiti.....	27
3.6.1 Human MMP-8 Reaktiflerin Hazırlanması.....	27
3.6.2 Örneklerin Hazırlanması.....	28
3.6.3 Test Protokolü.....	28
3.6.4 Sonuçların Değerlendirilmesi.....	29
3.7 Verilerin İstatistiksel Analizi.....	29
4 BULGULAR.....	30
4.1 Klinik Bulgular.....	30
4.2 Laboratuvar Bulguları.....	55
5 TARTIŞMA VE SONUÇ.....	58

KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ.....	85

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	MMP aktivasyonu ve Periodontal yıkım ilişkisi.....	18
Şekil 4.1	Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi Pİ değerlerinin grup içi karşılaştırması.....	37
Şekil 4.2	Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi Pİ değerlerinin gruplar arası karşılaştırması.....	38
Şekil 4.3	Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi Gİ değerlerinin grup içi karşılaştırması.....	39
Şekil 4.4	Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi Gİ değerlerinin gruplar arası karşılaştırması.....	40
Şekil 4.5	Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi CD değerlerinin grup içi karşılaştırması.....	41
Şekil 4.6	Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi CD değerlerinin gruplar arası karşılaştırması.....	42
Şekil 4.7	Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi DKZİ değerlerinin grup içi karşılaştırması.....	43
Şekil 4.8	Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi DKZİ değerlerinin gruplar arası karşılaştırması.....	44
Şekil 4.9	Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi ataşman değerlerinin grup içi karşılaştırması.....	45
Şekil 4.10	Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız Pİ değerlerinin grup içi karşılaştırması.....	46
Şekil 4.11	Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız Pİ değerlerinin gruplar arası karşılaştırması.....	47
Şekil 4.12	Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız Gİ değerlerinin grup içi karşılaştırması.....	48
Şekil 4.13	Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız Gİ değerlerinin gruplar arası karşılaştırması.....	49
Şekil 4.14	Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız CD değerlerinin grup içi karşılaştırması.....	50
Şekil 4.15	Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız CD değerlerinin gruplar arası karşılaştırması.....	51
Şekil 4.16	Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız DKZİ değerlerinin grup içi karşılaştırması.....	52
Şekil 4.17	Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız DKZİ değerlerinin gruplar arası karşılaştırması.....	53
Şekil 4.18	Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız ataşman değerlerinin grup içi karşılaştırması.....	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	DOS periotron değerleri ve gingival enflamasyon derecesi arasındaki ilişki.....	8
Çizelge 2.2	DOS'ta saptanabilen moleküller.....	9
Çizelge 4.1	Gruplara ait yaş ve cinsiyet ortalamaları ve standart sapmaları.....	30
Çizelge 4.2	İlaç grubu tüm ağız ve ölçüm bölgesine ait tedavi öncesi ve tedavi sonrası klinik ölçüm değerlerinin karşılaştırması.....	31
Çizelge 4.3	Plasebo grubu tüm ağız ve ölçüm bölgesine ait tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçüm değerlerinin karşılaştırması.....	32
Çizelge 4.4	Gruplara ait tedavi öncesi ölçüm bölgesi değerlerinin karşılaştırması.....	33
Çizelge 4.5	Gruplara ait tedavi sonrası ölçüm bölgesi değerlerinin karşılaştırılması.....	34
Çizelge 4.6	Gruplara ait tedavi öncesi tüm ağız değerlerinin karşılaştırılması.....	35
Çizelge 4.7	Gruplara ait tedavi sonrası tüm ağız değerlerinin karşılaştırılması.....	35
Çizelge 4.8	İlaç grubu tedavi öncesi ve sonrası MMP-8 ve TNF- α değerleri.....	55
Çizelge 4.9	Plasebo grubu tedavi öncesi ve sonrası MMP-8 ve TNF- α değerleri.....	55
Çizelge 4.10	Tedavi öncesi MMP-8 ve TNF- α değerlerinin gruplar arası karşılaştırması.....	56
Çizelge 4.11	Tedavi sonrası MMP-8 ve TNF- α değerlerinin gruplar arası karşılaştırması.....	56
Çizelge 4.12	MMP-8 ve TNF- α 'nın klinik parametrelerle ilişkisi.....	57

KISALTMALAR DİZİNİ

Ark	Arkadaşları
AS	Ataşman Seviyesi
DKZİ	Dişeti Kanama Zamanı İndeksi
DOS	Dişeti Oluğu Sıvısı
ESM	Ekstraselüler Matriks
Gİ	Gingival İndeks
IL	İnterlökin
KP	Kronik Periodontitis
MMP	Matriks Metalloproteinaz
NSAİ	Non-Steroidal Antienflamatuvar İlaç
ÖB	Ölçüm Bölgesi
PG	Prostaglandin
Pİ	Plak İndeksi
PMNL	Polimorfonükleer Lökosit
SCD	Sondlama Cep Derinliği
TA	Tüm Ağız
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör-Alfa

GİRİŞ

Periodontitis, gram (-) bakterilerin dişetinde başlattığı iltihabi olayın, dişi destekleyen dokulara yayılması sonucu; periodontal bağ dokusunun yıkımı, ataşman kaybı, alveoler kemik rezorpsiyonu ve sonuçta diş kaybı ile sonuçlanabilen, aktif ve pasif dönemlerle devirsel seyredabilen enfeksiyöz bir hastalıktır [1].

Mikrobiyal dental plak, periodontal hastalık etyolojisinde birincil etken olarak gösterilmektedir [2]. Ancak yalnızca bakteri plağı varlığının hastalığın patogenezi açıklamada yetersiz kaldığı, hastalığın gelişebilmesi ve ilerleyebilmesi için bakteriler ve konak savunma mekanizmaları arasında bazı etkileşimlerin olduğu belirtilmektedir. Konak savunma sistemi hücreleri bakteri plağı mikroorganizmaları ile karşılaştığında hem doku yıkıcı hem de koruyucu mekanizmalar aynı zamanda aktive olmakta ve immün yanıtın şekli, iltihabi olayın koruyucu ya da yıkıcı olup olmayacağını belirlemektedir [3,4].

Klinik parametreleri destekleyici olarak, periodontal hastalığın teşhisinde değişik laboratuvar esaslı tanısal metodlar da kullanılmaktadır. Bu tanısal metodlar çoğunlukla salya, bakteri plağı, dişeti oluğu sıvısı (DOS), periferik kan polimorfonükleer lökositleri (PMNL) ve kan serumunun incelenmesi temeline dayanmaktadır. Bunların arasında en fazla ilgi çeken ve incelenen serum orijinli bir eksüda olarak kabul edilen DOS'un içeriğidir. Oluşumu ve salınımı ile ilgili çeşitli değerlendirmeler vardır. DOS, gerek farklı hastalık tiplerindeki salınımı ve gerekse de içerdiği bileşenlerle son yıllarda periodontal hastalık gelişimi ile ilgili önemli bilgiler saptayan bir sıvı olup [5], aynı zamanda konak savunma mekanizmasının önemli bir basamağını oluşturmaktadır [6].

DOS'a ait çeşitli çalışmalar ile varlığı belirlenen 40'ın üzerindeki komponentin periodontal hastalıkla olan ilişkileri açıklanmaya çalışılmıştır. Bu nedenle dişeti oluğu sıvısının analizi, hastalık aktivitesinin belirlenmesi açısından daha güvenilir bir marker olarak görülmektedir [5].

Gerek sağlıklı periodonsiyumda gerekse periodontal hastalıkta, DOS'ta bulunan çeşitli komponentlerin incelenmesinin dokuların savunma sistemlerinin daha iyi anlaşılmasına ışık tutacağı ve hastalık için ayırıcı bir indikatör olabileceği birçok araştırmacı tarafından vurgulanmıştır [7].

Matriks metalloproteinazlar (MMP), patolojik olaylar esnasında bağ doku yıkımı ve remodelasyonunda rol oynayan, önemli bir enzim grubudur. Aktif MMP'ler ve onların endojen inhibitörleri arasındaki dengesizlik, periodontitiste ekstraselüler matriks yıkımına yol açar [8,9]. Periodontal iltihabın vasküler aşamasında, bakteriyel patojen ve onların ürünlerinin PMNL ve makrofajlar üzerinde yaptığı stimülasyon sonucu, matriks yıkıcı proteinazlar olan MMP'ler sentezlenir [9,10]. MMP'ler aynı zamanda fibroblastlar [11], keratinositler [12] ve endotelial hücreler [13] tarafından da salgılanır. MMP'lerin dişeti ve DOS'taki artmış düzeyleri, kollajen lif ve bağdokusunun yıkımının bir göstergesidir [14,15]. MMP-8 (nötrofil kollajenaz veya kollajenaz-2) periodontal hastalıkta doku yıkımında rol alan PMNL-tip bir kollajenazdır [16]. PMNL-tip kollajenaz, PMNL'lerin özel granüllerinde depolanır ve bu hücreler uyarıldığında hızla salınırlar. MMP-8, periodontitisli bölgelerden toplanan DOS örneklerinde tespit edilmiş, ve araştırmacılar [17,18], MMP-8'in kronik periodontal hastalıklarda görülen destek doku yıkımında anahtar bir rolü olduğunu bulmuşlardır. MMP-8'in DOS'taki düzeyinin periodontal hastalığın şiddeti [19] ve ataşman kaybı [20] ile ilişkisi gösterilmiştir. Golub ve ark. [21], kronik periodontitisli hastalardan toplanan DOS örneklerindeki kollajenazın %94-96'sının MMP-8 olduğunu bildirmiştir.

Tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), makrofaj ve monositlerce, bakteriyel lipopolisakkaritlere cevap olarak salgılanan 'kaşektin' olarak da bilinen bir sitokindir [22]. TNF- α , temel olarak monosit ve makrofajlardan, fakat aynı zamanda B hücreleri, T hücreleri ve fibroblastlardan da salınır [23]. Sitokinler, hücrelerarası mesaj iletimini sağlayan kimyasal maddelerdir. Enflamatuvar hastalıklarda görev alan en önemli sitokinlerden biri olan TNF- α , oldukça geniş bir biyolojik aktivite spektrumuna sahiptir. Tümör hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi, tümör nekroz faktör adını almasına neden olan ve ilk keşfedilen görevidir. Bunun dışında, IL-1, 6, 8 ve granülosit-monosit koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) gibi diğer sitokinler için stimülatör görevi üstlenir [24,25,26]. Ayrıca intraselüler adezyon molekül-1 (ICAM-1) gibi adezyon molekülleri salınması için fibroblastları tetikler [27]. Yine fibroblastlardan kollajenaz salınımını [28] ve kemik rezorpsiyonunu [29] indükleyerek periodontal doku yıkımında rol alır [30]. Periferik kan monositlerinin, gram negatif bakterilerin lipopolisakkaritleriyle karşılaşması sonucu TNF- α 'nın salgılanmasından sonra indüklenen dişeti fibroblastlarında yoğun bir şekilde kollajenaz sentezlenir [31,32]. TNF- α 'nın fibroblastları stimüle ederek, kollajen yıkımına neden olduğu daha önce in-vitro olarak

gösterilmiştir [33]. Ayrıca, periodontal hastalıkların tespitinde muhtemel bir indikatör olabileceği de daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir [34].

Non-steroidal anti-enflamatuvar ilaçlar (NSAİ), araşidonik asit metabolizmasının siklooksijenaz yolunu inhibe ederek, prostaglandinler, prostasiklinler ve tromboksanların sentezini engeller [35]. Araşidonik asit metabolitleri, vazodilatasyon, vazokonstriksiyon, damar permeabilite artışı, ödem, ağrı, ateş, nötrofil ve monosit kemotaksisi gibi enflamatuvar süreçte görülen temel olayların çoğuna etki eder [36,37]. Diğer medyatörler üzerinde direkt veya salınımları ya da inhibe edilmeleri şeklinde dolaylı yoldan etkili olurlar. Örneğin prostaglandin E₂'nin (PGE₂), IL-1 ve TNF- α 'nın üretim ve salınımı üzerine çok geniş etkileri vardır [38,39].

NSAİ'lerin konak cevabına etkileri üzerine çok sayıda insan ve hayvan çalışması yapılmıştır [35,40]. Bu çalışmalarda cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak verilen NSAİ'lerin dişeti enflamasyonunu, ataşman kaybı miktarını ve kemik kaybını azalttığı görülmüştür. NSAİ'lerin aynı zamanda lökosit akümülyasyonunu [41] ve PMNL'lerce salınan lizozomal enzimleri inhibe ettiği gösterilmiştir [42]. Bu çalışmalarda farklı etken maddeli çeşitli NSAİ'ler kullanılmıştır. Bu özellikleri nedeniyle NSAİ'lerin periodontal hastalıklar üzerine etkili olabileceği düşünülmüştür. Tenoxicam, oxicam grubundan tienotiazin türevi, non-steroidal, anti-enflamatuvar ve analjezik etkili bir NSAİ'dir.

DOS'taki yüksek MMP-8 ve TNF- α aktivitesinin periodontal yıkımın bir göstergesi olabileceği düşüncesinden yola çıkarak, çalışmamızda kronik periodontitisli hastalarda başlangıç periodontal tedavisi ile birlikte verilen Tenoxicam'ın, dişeti oluşu sıvısı MMP-8 ve TNF- α aktivite düzeyleri ile klinik parametreler üzerine, başlangıç tedavisine ek bir etkisi olup olmadığının değerlendirilmesi, diğer yandan da periodontal klinik indekslerden yararlanarak, klinik durum ile DOS'taki enzim ve sitokin aktivite düzeyleri arasındaki ilişkinin gözlemlenmesi amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

2.1 Kronik Periodontitis

Kronik periodontitis, dişeti iltihabı ile başlayıp, tedavi edilmediği takdirde ataşman ve kemik kaybıyla seyreden, ilerleyen dönemlerde de diş kaybıyla sonuçlanan kronik iltihabi bir hastalıktır [43,44,45]. Her kronik periodontitisin öncesinde bir gingivitis hikayesi zorunlu olmakla beraber, her gingivitis olgusu uzun yıllar tedavi edilmemiş olsa bile kronik periodontitis ile sonuçlanmak zorunda değildir.

Kronik periodontitis, klinik olarak; dişetinde renk değişikliği, pürüklülüğün kaybolması, dişeti kenarında bıçak sırtı görüntüsünün kaybolması gibi bulgularla dikkati çeker. Bununla beraber; spontan veya kolayca başlatılabilen dişeti kanaması sıklıkla görülür [44,45]. Ayrıca dişeti büyümesi ve/veya çekilmesi, furkasyon bölgelerinde açılma, diş mobilitesinde artış, dişlerde yer değiştirme ve son safhada gerçekleşen diş kaybı da belirtileri arasındadır [46]. Periodontal cep varlığı ve dişeti kenarında kronik enflamatuvar değişiklikler gözlenir. Çeşitli derinliklerde ceplere, ataşman ve kemik kayıplarına rastlanabilir. Kemik kayıpları hem yatay hem de dikey yönde gözlenebilir. Kemik kaybının aşırı olduğu, ilerlemiş durumlarda sıklıkla mobilite vardır. Bu klinik bulgular kemik kaybının boyutları ile orantılı şekilde radyografik olarak da tespit edilebilir [43,44,45]. Kronik periodontitis genellikle ağrısızdır. Bu durum rutin dental kontrollerin yapılamadığı ülkemizde, hastaların tedavi ihtiyacı duymaları ve hastalığın erken dönemde teşhis ve tedavisinin yapılabilmesi konusunda büyük sorun teşkil etmektedir.

Kronik periodontitis, ağızda etkilediği alanın genişliğine göre lokalize ve generalize olmak üzere iki grupta tanımlanır. Etkilenmiş dişlerin sayısı, tüm diş sayısının %30'undan az ise 'lokalize', fazla ise 'generalize' olarak nitelendirilir. Hastalık genellikle generalize seyirlidir. Bazı bölgeler diğer bölgelere oranla daha fazla etkilenebilir. Örneğin; plak kontrolünün güç olduğu bölgelerde hastalığın şiddeti artar [43,44,45]. Lokalize ve generalize tipler, ataşman kaybı miktarına bağlı olarak, yıkımın şiddetini değerlendirme açısından üç alt gruba ayrılmıştır: klinik ataşman kaybı 1-3 mm arasında ise hafif, 3-5 mm arasında ise orta, 5 mm'den fazla ise şiddetli olarak değerlendirilir.

Kronik periodontitisin ana etkeninin mikrobiyal dental plak olduğu bilinmektedir [43,44,45,47]. Mikrobiyal dental plağın kalitatif ve kantitatif yapısı kötü ağız hijyeni ile

yakından ilişkilidir. Periodontal hastalıklarda supragingival ve subgingival alanlardaki plak kompozisyonunun farklı olduğu, lezyonun ilerlemesi ile gram negatif anaerob bakterilerin artış gösterdiği bilinmektedir. Mombelli ve ark. [48] periodontitis hastalarında cep derinliği arttıkça siyah pigmente gram negatif bakteri olan *Porphyromonas gingivalis* ve *Prevotella intermedia*'nın sayısında da artış olduğunu tespit etmiştir. Gram negatif bakterilerin, endotoksinleri ve enzimleri vasıtasıyla doğrudan yıkım yapabildikleri gibi, dolaylı yollarla da, çeşitli immün sistem mekanizmalarını tetikleyerek dokularda yıkıma yol açtıkları bildirilmiştir [49]. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda *Actinobacillus actinomycescomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum* ve spiroketler gibi mikroorganizmalar, periodontal hastalıklı bölgelerden çok sık izole edilmiş ve periodontopatojen oldukları ileri sürülmüştür [50-52]. Ancak yapılan çalışmalarda, periodontal hastalık oluşumunu açıklamada, sadece bakteriler ve ürünlerinin varlığının yetersiz olduğu, hastalığın gelişebilmesi ve ilerleyebilmesi için, bakteri ve konak savunma sistemi arasındaki etkileşimin ve bireysel duyarlılığın da önemli olduğu vurgulanmıştır [53]. Çoğu kronik enflamatuvar hastalık gibi, bu hastalığın da başlaması ve ilerlemesinde lokal nedenler, sistemik nedenler, çevresel nedenler ve genetik nedenler olmak üzere 4 ana faktör rol oynar. Lokal faktör olarak bakteri plağı en önemli etken iken; restorasyonlar, dişin anatomik yapısı gibi plak retansiyonuna neden olan lokal etkenler de önemli görülmektedir. Sistemik faktörlerden diyabet üzerinde önemle durulurken, çevresel faktörlerden sigara kullanımına dikkat çekilmiştir. Ayrıca genetik faktörlerin önemi üzerinde de durulmuştur [44,47,54-56].

Kronik periodontitis her yaşta görülebilir ancak; ilk bulguları sıklıkla adolesan çağda gözlenir. Kronik periodontitisin ilerleme hızı oldukça değişkenlik göstermesine rağmen hastalık genellikle yavaş seyirlidir [43,44,45]. Hastalığın ilerleme hızı ağzın farklı bölgelerinde farklı oranlarda görülebilir. Bazı bölgelerde uzun süre pasif kalırken bazı bölgelerde hızlı bir aktivite gösterebilir. Periodontal hastalığın aktif olarak tespit edildiği bölgelerde; plak birikiminin fazla olduğu ve biriken plağın uzaklaştırılmasının güç olduğu rapor edilmiştir [57]. Konak savunma faktörleri de hastalığın şiddetinde önemli bir rol oynar. Dişeti dokusundaki mikroorganizmalar ile konak savunma mekanizması arasında her zaman bir denge mevcuttur. Bu denge mikroorganizmalar lehine bozulacak olursa, yavaş seyirli olan hastalık şiddetlenerek daha fazla kemik yıkımına ve nihayetinde diş kaybına sebep olur [43-45]. Konak cevabının bir parçası

olarak üretilen ve doku yıkımına katkıda bulunan medyatörler; proteinazlar, sitokinler ve prostaglandinlerdir.

Konak immün sistemi sayısız patojene iki esas spesifik mekanizma yoluyla cevap verir [58,59]. Periodontitisin erken safhalarında oluşan birincil immün cevap; kompleman sistem, trombosit bağı beta-lysin, akut faz proteinleri ve lizozimden oluşan serum faktörleri tarafından verilir. Eğer serum elemanları mikroorganizmaları kontrol etmede başarılı olamaz veya yetersiz kalırlarsa, konak savunması, damar geçirgenliğinin artması ve enflamatuvar hücreleri doku içine hareket ettiren kemotaktik uyarının gelişmesi şeklinde devam eder. Bu devrede periodontal enfeksiyon bölgesine polimorfonükleer lökositler (PMNL) göç ederek hücrel savunma hattını oluştururlar [58-60]. Nötrofiller bakterileri fagosite eder, kollajenaz, elastaz ve myeloperoksidaz gibi yıkıcı enzimlerin ve ayrıca serbest radikallerin salınımına yol açarlar [61]. Nötrofiller etken mikroorganizma ve ürünlerini fagositoz ve hücre içi öldürme mekanizmaları yoluyla uygun sürede ortadan kaldırıp anaerobik bir çevrede nötralize ederler. Başarısız olduklarında bağ dokusunu infiltre eden monositler bölgeye gelir, doku makrofajlarına dönüşür, antijeni ya tümüyle sindirir ve transforming growth factor- β (TGF- β) gibi sitokinlerle onarım işleminin sinyalini verir ya da kısmen sindirilmiş antijeni lenfositlere sunarlar. Bu noktada kronik periodontal enflamasyon yani periodontal hastalık meydana gelir. Aynı dönemde kollajenaz, antikor, prostaglandin E₂ (PGE₂), kompleman faktörleri ve sitokin gibi maddelerin salgılanması bir veya daha fazla doku yıkım mekanizmalarının aktive olmasına neden olarak ataşman ve alveol kemiği kaybına yol açar. Bu karmaşık basamaklar periodontal hastalık patogeneğinde birbirleriyle ilişkili ve devamlı olarak gerçekleşmektedir [6,46,60,62,64,65].

Periodontal hastalıkların takibinde, hastalığın mevcut durumunun aktif dönemde mi pasif dönemde mi olduğunun tespit edilebilmesi, hastalığın yıkıcı etkilerinin kontrol altında tutulabilmesi için klinik yöntemler yetersiz kalmaktadır. Klinik yöntemler; ödem, renk değişikliği, sondlamada kanama, süpürasyon gibi enflamasyonun klinik bulguları ile sondlama cep derinliği, ataşman kaybı, diş mobilitesi ve radyografik değerlendirme gibi periodontal yıkımın tespitine yönelik incelemeleri içermektedir. Bu yöntemler hastalığın klinik durumu ve geçmişte yarattığı yıkım ile ilgili belli düzeyde bilgi vermekte, ancak hastalığın mevcut aktivitesi ve geleceği ile ilgili bilgi verememektedir. Bu nedenle çeşitli tetkik yöntemleri üzerinde durulmuştur. Bunlar mikrobiyolojik, immünolojik, genetik ve biyokimyasal yöntemlerdir. Bu yöntemlerin

uygulanmasında serum, tükürük ve DOS gibi vücut sıvılarının içeriği önemli bir kaynak teşkil etmektedir. Periodontal hastalık esnasında özellikle DOS ve tükürüğün miktarı veya içeriğinde önemli değişiklikler meydana geldiği ortaya konmuştur [57,66,67]. Bu nedenle mevcut periodontal durumun tespit edilmesinde DOS'un analizi faydalı olabilir.

2.2 Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS)

DOS; seruma benzer, dişetin ekstraselüler sıvısı olup, dişetin epitel tabakasını geçerek dişeti oluğundan ağız içine akar. Oldukça zengin bir içeriğe sahiptir. Dişeti oluğu bölgesindeki bakteri ve konak hücrelerinin metabolik elementlerini içerir [57,66,67,69-71]. Bunlar arasında; çoğunluğu nötrofiller olmak üzere, enflamatuvar hücreler, deskuame epitel hücreleri, serum proteinleri, karbonhidratlar, Na, K, Ca, Mg gibi elektrolitleri ihtiva eder [68,69].

DOS'la ilgili yapılan ilk çalışmalar 1950'lerin başlarına dayanmaktadır. Bu yıllarda Waerhaug gingival sulkusun anatomisi ve periodontitis esnasında nasıl periodontal cebe dönüştüğünü incelemiştir [167]. Daha sonra 50'lerin sonu 60'ların başında Brill ve ark. DOS'un oluşumu ve içeriği ile ilgili çalışmalar yapmışlardır [74]. Egelberg ise çalışmalarında dentogingival damar geçirgenliği ile DOS akışı arasındaki ilişkiye odaklanmıştır. Proteinlerin ve özellikle enzimlerin DOS'ta var oldukları ve fonksiyon gördükleri ise ilk olarak Sueda, Bang ve Cimasoni tarafından keşfedilmiştir [78,168]. Bu keşif, hasar gören periodontal dokulardan salınan bu enzimlerin, periodontal durumun teşhis edilmesinde büyük bir potansiyel taşıdığı fikrini doğurmuştur. Ohlsson, Golub ve Uitto, DOS'taki kollajenaz ve elastazın primer olarak konak hücrelerinden, özellikle de nötrofillerden salındığını ve bu enzimlerin gingival enflamasyon ve cep derinliği ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir [166,169,170]. DOS'un ne olduğu konusunda birçok hipotez ortaya atılmıştır. Brill ve Krasse, sıvının damar geçirgenliği artışıyla oluştuğu, dolayısıyla patolojik bir fenomen olduğu hipotezini ortaya atmıştır [73-75]. Bu permeabilite artışının sebebini dişeti oluğu ve bağlantı epitelinin altındaki bağ dokusunda oluşan iltihabi değişikliklerle ilişkilendirmişlerdir [72-74]. Ayrıca bu erken dönem çalışmalarda, parenteral sirkülasyona katılan maddelerin DOS'ta yer aldığını göstermişlerdir [71,73,74]. Daha sonra köpeklerde yapılan deneyler, DOS akışının çiğneme veya diş fırçalama ile uyarıldığını, ayrıca intravenöz histamin enjeksiyonunu ve enflamasyon gelişimini takiben belirgin derecede arttığını göstermiştir [75]. Bu veriler, kimyasal ve mekanik bazı irritasyonların DOS üretimi için gerekli olduğu ve bu nedenle DOS'un patolojik bir

fenomen olarak değerlendirilmesi gerektiği sonucunu doğurmuştur. Ancak günümüzde kabul gören hipotez, Alfano'nun [171] öne sürdüğü ve Pashley ve ark. [76] tarafından da onaylanan görüştür. Buna göre; DOS'un ozmotik meylin bir sonucu olarak dişeti oluşuna aktığı kabul edilmektedir. DOS'un sağlık durumunda gingival dokulardaki interstisyel sıvının bir transüdası olduğu, gingivitis ve periodontitis gibi hastalık hallerinde enflamatuvar eksüdaya dönüştüğü düşünülmektedir. Sağlıklı dişeti oluşundan toplanan küçük sıvı hacimlerinin sağlıklı ekstrasellüler sıvıya benzer bir içeriğe sahip olması bu hipotezi desteklemektedir.

DOS, içerisinde bulundurduğu plazma proteinleri ile dişetin diş daha sıkı kavramasına yardımcı olur, dişeti oluşunu yıkayarak temizler ve antibakteriyel bir etkiye sahiptir. Ayrıca DOS, antibiyotikler gibi sirkülasyonda bulunan maddeleri ve konak kaynaklı antibakteriyel maddeleri dişeti oluşu bölgesine taşır. Bahsedilen işlevleri içerisinde en önemli olanı, DOS'un yıkama fonksiyonudur [70].

DOS, saatte birkaç mikrolitre gibi küçük bir akış hızına sahiptir. Ağız boşluğuna günde 0,5-2.4 ml akış olur. Önce epitelyal hücreler arası boşluğa oradan da dişeti oluşuna geçiş yapar [71]. DOS hacminin ve akış oranının ölçümü, kanama ve renk değişimi gibi subjektif ölçümlerden ziyade enflamasyonun iyi bir erken belirteci olabilir (Bkz. Çizelge 2.1). Sağlıklı bir periodonsiyumda DOS ya hiç yoktur ya da çok azdır. Cimasoni'nin [78] 1983, Borden ve ark.'nın [79] 1977 yılında yaptıkları çalışmalar, DOS akış oranının enflamasyonun şiddeti ile doğru orantılı olduğunu göstermiştir. DOS akış oranı, gingivitis ve periodontitis gibi enflamatuvar periodontal hastalıklarda, sert gıdaların çiğnenmesi, dişeti masajı, oral kontraseptif ajanların kullanımı, ovülasyon, menstruasyon, hamilelik ve periodontal tedaviler esnasında oluşan travma durumlarında artar.

Çizelge 2.1 DOS periotron değerleri ve gingival enflamasyon derecesi arasındaki ilişki

Periotron değeri	Gingival enflamasyon seviyesi	Gingival indeks
0-20	Sağlıklı	0
21-40	Hafif	1
41-80	Orta	2
81-200	Şiddetli	3

DOS'taki bakteriyel ürünler ve konak doku kaynaklı ürünler periodontal hastalıkların teşhis ve patogeneğinde belirleyici olarak çeşitli çalışmalarda ölçülmüştür. DOS'ta konak doku cevabının göstergesi olan moleküllerin önemli bir kısmı nötrofiller ve monosit / makrofajlardan kaynağını alırlar [57]. DOS'ta saptanan nötrofil medyatörleri, lökotrien B4 (LTB4), platelet aktive edici faktör (PAF), tromboksan B2, elastaz, kollojenaz ve bir grup antioksidan enzimlerdir [80-82]. Ayrıca monosit / makrofajlar, PGE₂, IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF gibi enflamatuvar medyatörleri salgırlar [83,84]. Periodontal bağ dokusunun yıkımının bir göstergesi olarak DOS'ta hidroksiprolin ve pridinolin gibi kollajen yıkım ürünleri de bulunur (Bkz. Çizelge 2.2) [57]. DOS'ta konak doku cevabından kaynaklanan moleküllerin bir kısmının miktarının artışı [80,81] bir kısmının ise miktarında azalma olması periodontal hastalık göstergesi olarak değerlendirilmiştir [82].

Çizelge 2.2 DOS'ta saptanabilen moleküller

Enzimler	Lizozim, MMP-8, MMP-2, MMP-9, MMP-13, Nötral proteinaz, Dipeptidilpeptidaz, Alkalın fosfataz, Aspartat aminotransferaz, Miyeloperoksidaz, Kreatin kinaz, Laktat dehidrojenaz, Elastaz, β -Glukuronidaz, Katepsin G, D, B, Plazminojen, Gingipain, Süperoksit dismutaz, Glutasyon peroksidaz.
Proteinler	Laktoferrin, Sistatinler, Neopterin, β -NAH, TIMP, osteopontin, kalprotektin, hyaluronik asit, kondroitin sülfat, endotelin, proteoglikan, trombomodulin, transferrin, C reaktif protein, α -2 makroglobülin, α -1 antitripsin, osteokalsin, osteonektin, hyolüronan, fibronektin, ICTP, α -1-EPI, NTx, E-selektin, nörokinin A, MRP-8, kalsitonin, albümin
İmmünglobülinler	IgA, IgG, IgM, IgE
Sitokinler	VEGF, IL-1 β , TNF- α , IL-2, INF- α , IL-10, RANTES, IL-8, IL-1ra, IL-4, IL-6, TGF- β , HGF, EGF
Diğerleri	PAF, Lökotrien B4, Tromboksan B2, Hidroksiprolin, Lipoksin A, Keratin, Substans P, PGE ₂ , Glukoz, ICAM-1, Metilglioksal, Laktik asit, Propiyonik asit, Butirik asit, Filloguinin, Volatil sülfür bileşikleri, Glutasyon, Hidroksisilpridinolin

2.2.1 DOS Toplama Yöntemleri

DOS'un toplanmasında, yapılan çalışmanın hedefine bağlı olarak çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Çünkü her bir tekniğin kendine özgü avantaj ve dezavantajları vardır. Bu tekniklerin de farklı araştırmacılar tarafından uygulanan çeşitli modifikasyonları söz konusudur. Hangi teknik uygulanırsa uygulansın, DOS toplanırken plak, kan ve tükürükle kontamine olmamasına dikkat edilmelidir. Bu teknikler;

Gingival Yıkama Metodu

Bu teknikte dişeti oluşuna sabit hacimli izotonik bir solüsyon sıkılır. Toplanan örnek, DOS'un bir dilüsyonunu temsil eder. Hem hücreleri, hem de plazma proteinleri gibi çözülebilir partikülleri içerir. Bu tekniğin en büyük dezavantajı, aspirasyon ve reaspirasyon esnasında tüm sıvının toplanamamasıdır. Tam dilüsyon faktörü belirlenemediğinden, DOS hacmi ya da içeriğinin tam ölçümü mümkün değildir [172].

Kapiller Tüpler veya Mikropipetler ile Toplama

Örnek toplanacak alanın izolasyonu sağlandıktan sonra, belirli çaptaki kapiller tüpler dişeti oluşunun girişine yerleştirilir. DOS, kapiller aktivite ile tüp içine dolmaya başlar. Tüpün hacmi bilindiği için elde edilen sıvının hacmi kolayca hesaplanabilir. Böylece hacmi belli dilüe edilmemiş bir örnek elde etmek mümkün olur. Ancak örnek bölgesi enflame ve çok miktarda DOS içermediği sürece, yeterli düzeyde örnek toplamak oldukça zordur. Yeterli örnek toplama süresi 30 dakikaya kadar uzayabilir ve tüpü oluk girişinde bu kadar uzun süre tutmak kolay değildir. Bu tekniğin diğer bir komplikasyonu da, örneğin tümünün tüpten uzaklaştırılmasında yaşanan zorluktur [172].

Emici (Absorban) Kağıt Şeritler

Emici kağıt şerit yöntemi klinikte en çok tercih edilen yöntemdir. Bunun nedeni tekniğin bazı avantajlara sahip olmasıdır. Bu avantajlar; çabuk ve kolay uygulanabilir olması, ayrı ayrı alanlara uygulanabilir olması ve doğru uygulandığında yöntemler arasında en az travmatik olanı olmasıdır. Teknik iki şekilde uygulanabilir;

1-İntrakrevikular teknik: Bu teknikte kağıt şerit dişeti oluşu içerisine iki şekilde yerleştirilebilir. Brill'in [85] önerdiği gibi dişeti oluşuna hafif bir direnç hissedinceye kadar itilir. Ancak bu yöntemde sulkuler epitelin irritasyonu sonucu DOS akış hızı artabilir ve kağıt şerit kanla kontamine olabilir. İkinci yöntem Rudin ve ark.'nın [86] geliştirdiği tekniktir. Bu yöntemde kağıt şerit cep derinliğinden bağımsız olarak, cep kenarından 1 mm kadar içeri itilir.

2-Ekstrakrevikular teknik: Travmayı en aza indirmek için kağıt şerit dişeti oluğu üzerinde seyredir.

Dişin Etrafına Oluk İçine Yerleştirilen İplikler

Bu teknik uygulama açısından bazı dezavantajlara sahiptir. Oluk içine uygulama esnasında dişetin mekanik olarak uyarılması nedeniyle DOS akış hızının artmasına neden olur. Ayrıca travmatik bir teknik oluşundan dolayı, özellikle enflamasyonlu dişetlerinde ipin kan ile kontamine olma olasılığı çok yüksektir. Bu nedenlerle tercih edilen bir yöntem değildir.

2.2.2 DOS Toplanması Karşılaşılan Problemler

DOS örneği toplanırken yaşanan en önemli problemlerden biri kontaminasyondur. Kan, tükürük ya da plak ile kontamine olabilir. Bu da elde edilen örneğin hacmini önemli ölçüde etkileyebilir ve verilerin yanlış değerlendirilmesine neden olabilir. Bu durumdan kaçınmak için, örnek bölgesi tüm kontaminantlardan uzaklaştırılarak izole edilmeli ve büyük bir hassasiyetle atravmatik bir şekilde çalışılmalıdır.

İkinci önemli konu örnekleme zamanıdır. Ölçüm esnasında yapılan zamanlama hataları yanlış ölçümlere sebep olabilir. Tercih edilen yöntemle göre örnekleme zamanı belirlenir. Emici kağıt şerit ile toplanıyorsa ideal süre 30 saniyedir.

Bir diğer sorun da DOS'un kağıt şeritlerden buharlaşmasıdır. Bu örnekte hacim kaybına neden olur. Bunu engellemek için örnekleme esnasında mümkün olduğunca periotron cihazına yakın bulunmak gerekir.

Sonuç olarak; DOS toplama yöntemi, toplanan örneğin gerek hacminde, gerekse yapısında önemli değişikliklere neden olabileceğinden, ilgili markerların değerlendirilmesi esnasında bu durum göz önünde bulundurulmalıdır [172].

2.3 Sitokinler

Sitokinler, hücreden hücreye haber taşıyan, lokal, sistemik ve enflamatuvar cevapları düzenleyen, yara iyileşmesi, hematopoezis gibi birçok biyolojik olayda görev alan lokal hormonlar olarak tanımlanmaktadır [87]. Tüm sitokinler bir hücre tipi tarafından salınan ve üretilen küçük peptitler veya düşük moleküler ağırlıklı proteinlerdir. İmmünite ve enflamasyonun başlamasında; immün cevabın süresinin ve büyüklüğünün belirlenmesinde etkilidirler. Sitokinlerin çoğunun değişik hedef hücreler üzerinde birden çok etkileri vardır [88]. Bunlar başka bir hücre membranında yer alan spesifik reseptörlere bağlanırlar [87].

Sitokinler, benzer veya farklı hücre tiplerinin karmaşık haberleşme ağının devamlılığında sorumludurlar. Bundan dolayı; proliferasyon, gelişme, rejenerasyon, tamir ve enflamasyon gibi çeşitli biyolojik aktivitelerde önemli rol oynarlar. Birçok sitokin, hücre kaynağına ve fonksiyonlarına göre sınıflandırılır. Bununla birlikte sitokinlerin genellikle multifonksiyonel oldukları, birçok hücre tipi tarafından üretildikleri ve biyolojik aktivitelerinin birbiri içine geçmiş olduğu bilinmektedir [124].

Doku homeostazı, yapım ve yıkım olayları arasındaki hassas dengenin gerçekleşmesi sonucunda sağlar. Bunda, dokuyu oluşturan yerleşik hücreler tarafından üretilen sitokinler önemli rol oynar. Sağlıklı durumda, yerleşik hücrelerce salınan sitokinlerin düzenlediği migrasyon, proliferasyon, farklılaşmaların düzenlenmesi ve doku matriksinin üretimi gibi biyolojik olaylar, periodontal sağlığın devamı için gereklidir. Öte yandan, hastalık durumunda sitokinler yerleşik hücrelerin dışında enflamatuvar ve immün sistem hücreleri tarafından da üretilirler. Periodontal lezyonlarda, lenfositler, monositler, fibroblastlar ve ayrıca endotel ve epitel hücreleri gibi immün olmayan hücreler de çeşitli sitokinler üretirler [124].

Periodontitis, spesifik bakteriler tarafından başlatılır ve bu bakterilere karşı lokal konak cevabı; lökosit toplanmasını ve sonrasında IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 ve TNF- α gibi sitokinlerin ve enflamatuvar medyatörlerin salınımını içerir [89]. Bu enflamatuvar medyatörler ve sitokinler periodontal hastalık patogeneğinde önemli roller oynarlar. Sitokinler pek çok fizyolojik olayda önemli roller üstlenmelerine rağmen uygunsuz olarak salgılandıklarında patoloji oluşumuna da aracılık edebilirler [90]. Hücre ölümüne sebebiyet verme potansiyeline sahip olmaları nedeniyle sitokin aktivitesi çok dikkatli bir şekilde düzenlenir. Bu sitokinler için bir grup negatif düzenleyici mevcuttur. Bunlar; IL-4, IL-10 ve IL-11 gibi anti-enflamatuvar sitokinler, IL-1 reseptör antagonisti gibi inhibitörler, çözünebilir IL-1 ve TNF reseptörleridir [91]. İmmün sistemin anti-enflamatuvar ve pro-enflamatuvar unsurları arasında doğal bir denge söz konusudur. Ancak periodontal hastalık esnasında olduğu gibi kronik enflamatuvar hastalıklarda pro-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar faktörler arasındaki denge pro-enflamatuvar aktivite lehinde değişir [92,93].

Bu sitokinler için monoklonal antikorlar üretilmiş olması sebebi ile ELISA yöntemi ile ölçülebilirler ve böylece klinik test sistemlerinde kullanılabilirler [87].

2.3.1 TNF- α

TNF, periodontal hastalık esnasında meydana gelen olayların bir kısmına aracılık eden bir sitokindir. TNF moleküler ağırlığı yaklaşık 17,000 kDa/monomer olan trimerik bir proteindir [94]. Carswell ve ark. [95] tümör inhibisyonu yapan ve endotoksinlerin uygulanmasından sonra nekroza yol açan maddeyi tanımlamak için tümör nekroz faktör adını vermiştir. Aynı yıllarda diğer araştırmacılar tarafından bulunan, parazitik ve diğer enfeksiyonlar sırasında lipoprotein sentezini sağlayan ve glikozu yağ asitine eviren enzimleri inhibe ederek kaşeksiye neden olan faktör ‘kaşektin’ ve lenfositlerce üretilen anti-tümör özellikteki lenfotoksin molekülleri bulunmuş, sonradan bu üç molekülün aynı molekül olduğu tespit edilmiştir [96,97].

TNF’nin kaşektin olarak bilinen TNF- α ve lenfotoksin-alfa olarak da bilinen TNF- β olmak üzere iki farklı tipi vardır. Hücre yüzeyi yapısı açısından birbirine benzeyen iki farklı TNF reseptörü vardır: TNF reseptör-1 ve TNF reseptör-2. Bu reseptörler farklı sitoplazmik kısımlara sahiptirler ve bunun sonucu olarak farklı uyarılarla aktif hale gelirler [96].

TNF- α , makrofajlar ve monositler tarafından üretilen ve kaşektin olarak da bilinen bir polipeptid sitokindir. TNF- α , çeşitli hücre populasyonları üzerinde bir grup enflamatuvar ve immün düzenleyici etki gösterir [90]. Periodonsiyumda; monositler, makrofajlar, polimorfonükleer lökositler, fibroblastlar (gingival ve periodontal ligament), epitelyal hücreler, endotelyal hücreler, osteoblastlar [99] gibi birçok kaynaktan üretilen TNF- α , dişeti fibroblastlarını da içerecek şekilde fibroblastları uyararak periodontal hastalıklarda doku yıkımından sorumlu bir enzim olan kollajenaz üretimini ve osteoklastları aktive ederek kemik rezorpsiyonunu stimüle eder [99]. TNF- α monositleri aktif hale getirir, platelet aktive edici faktörün, IL-1 β ’nın ve prostaglandin üretimini artırılmasını tetikler [100].

TNF indüksiyonu, kemotaktik sitokinler olarak rol oynayan kemokinler ve prostaglandinleri üreten siklooksijenazlar gibi sekonder medyatörlerin üretimini uyarır [96,101]. İmmün cevapta multipotent bir düzenleyici olarak rol oynar ve ayrıca potent bir pirojen olarak işlev görür. TNF- α , enflamatuvar ajanlar ve doku yaralanmaları gibi uyarılara cevap vererek, nötrofilleri aktive ederek, vasküler endotelyal hücrelerin özelliklerini değiştirerek ve lokal kan pıhtılaşması oluşturarak t morisidal aktiviteyi artırdığı gibi, diğer hücrelerin metabolik aktivitelerini de düzenleyerek tüm vücutta dolaşır. İmmün sistemdeki çeşitli işlevlerinden dolayı TNF- α ’nın kaşeksi, otoimmün

hastalıklar, organ transplantının reddi, ateroskleroz gibi pek çok hastalığın patogeneğinde rol alabileceği öne sürölmüştür [103,104]. TNF- α , eklemlerin ve diğer dokuların enflamatuvar hastalıklarının patogeneğinde de önemli roller oynayabilir [102].

TNF- α ve IL-1 β gibi sitokinlere iltihaplı dişeti dokularında ve periodontitisli hastaların DOS'larında yüksek miktarda rastlanması; bu sitokinlerin periodontal doku hasarından sorumlu olabileceğini ortaya koymuştur. Bu sitokinleri inhibe eden çözünebilir reseptörlerin etkilerini değerlendiren bir çalışmada osteoklast formasyonunda %67, kemik rezorpsiyonunda da %60 azalma olduğu tespit edilmiştir [105]. Yine başka bir çalışmada IL-1 ve TNF- α antagonistlerinin papiller enjeksiyonu ile kemik kaybında kontrol grubuna oranla %50 azalma gözlenmiştir [106].

2.4 Enzimler

Enzimler, metabolizma reaksiyonlarının pek çoğunu hızlandıran protein yapısında biyolojik katalizörlerdir. Hücrelerde organik maddelerin yapılması ve yıkılması, sindirim, kas kasılması, hücre solunumu gibi önemli faaliyetler çeşitli metabolizma reaksiyonlarının sonucudur ve bu reaksiyonlar enzimlerin katalitik etkisiyle mümkün olmaktadır. Enzimlerin kimyasal katalizörlerden en önemli farkı özgül (spesifik) olmalarıdır. Genel olarak enzimler belirli maddeler arasındaki belirli reaksiyonları katalize ederler. Enzimlerin adlandırılması genel olarak katalize ettikleri reaksiyonun niteliğine göre yapılır. Çoğu zaman enzimin etki ettiği substrata 'az' eki getirilerek ya da etkili olduğu substratın sonuna 'olitik' eki getirilmek yoluyla isimlendirilirler. Örneğin proteinleri parçalayan enzimlere 'proteazlar' ya da 'proteolitik enzimler' denir [173].

Enzimler başlıca altı büyük sınıfa ayrılır. Bunlar kısaca şunlardır:

Oksidoredüktazlar: Oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarını katalize ederler.

Transferazlar: Fonksiyonel bir grubun transfer reaksiyonunu katalize eden enzimlerdir.

Hidrolazlar: Kimyasal tepkimede büyük moleküllerin yıkılması için kimyasal bağa su eklemek yoluyla veya başka bir grubu suya çevirerek kolay kullanılır hale getiren enzimlerdir. Örnek; proteazlar, karbonhidrazlar, lipazlar vb.

İzomerazlar: Bir molekül içindeki geometrik ve yapısal değişiklikleri yani izomerizasyon reaksiyonlarını katalize ederler.

Ligazlar (Sentetazlar): Enerji kullanarak substrat moleküllerinin birbirine bağlanmasını sağlayan enzimlerdir. Örnek; aminoasitlerin veya yağ asitlerinin aktifleşmesi.

Enzimlerin etkinliğini, dolayısıyla kimyasal tepkimelerin hızını artıran veya azaltan pek çok faktör vardır. Bu faktörler; substrat konsantrasyonu, enzim konsantrasyonu, pH, sıcaklık, su aktivitesi, reaksiyon süresi, reaksiyon ürünleri, enzim inhibitörleri ve aktivatörleri, radyasyon, basınç, kaynama güçleri ve ışık gibi çeşitli fiziksel faktörler ve hormonlar şeklinde sıralanabilir. Bir enzimatik reaksiyonda, reaksiyon hızı bu faktörlerden değişik derecelerde etkilenmektedir. Ancak enzimatik reaksiyonlarda faktörler arası etkileşim de önemli olmaktadır. Örneğin bir enzimin en iyi aktivite gösterdiği pH değeri farklı ortam sıcaklıklarından etkilenerek değişiklik gösterebilir. Bu nedenle enzimatik reaksiyonlarda, ortam koşulları bir bütün halinde dikkate alınmalıdır.

Enzimler, substrat ile birleşmelerinin ve girdikleri reaksiyon sonucu ürünün elde edilmesinin ardından, bozunmadan reaksiyondan çıkarlar ve görevlerine devam ederler. İşte bu döngünün kırılması ve bu reaksiyonların dengede tutulabilmesi için çeşitli enzim inhibitörleri bulunur. Enzim-substrat kompleksinin oluşmasını değişik şekillerde etkileyen, enzim faaliyetinin azalmasına yol açan, doğal veya yapay kimyasal maddelere 'enzim inhibitörleri', bu olaya ise 'enzim inhibisyonu' denir. Bu maddeler istenmeyen enzim aktivitesinin önlenmesi veya kontrol altında tutulmasında aracı olarak kullanılır [173].

Periodontal hastalık patogenezinde rol oynayan birçok konak ve bakteri kökenli enzim bulunmaktadır. Bu enzimlerin en önemlilerinden birisi de, hidrolaz grubu bir enzim olan matriks metalloproteinazlardır.

2.4.1 Matriks Metalloproteinazlar ve Patogenezdaki Önemi

Periodontal hastalıklar sırasında meydana gelen doku yıkımları çoğunlukla ekstraselüler matriks (ESM) yapı komponentlerini kapsar. Periodontal dokular başlıca hücreler ve ESM'den oluşmaktadır. Periodonsiyumu oluşturan hücreler; epitel hücreleri, fibroblastlar, farklılaşmamış mezenkimal hücreler, Malassez epitel artıkları, savunma hücreleri, mast hücreleri, sementoblastlar [107], sementoklastlar, osteoblastlar, osteoklastlar, endotel hücreleri, plazma hücreleri ve sinir hücreleridir [108,109]. ESM esas olarak; kollajen, kollajen olmayan proteinler ve proteoglikanlardan oluşmaktadır [110]. Hücrelerin migrasyonunun kolaylaştırılması, kollajen fibrillerinin stabilitesi ve

diziliminin düzenlenmesi, hücrelerin ve fibrillerin doku bütünlüğü içinde tutulması, mineralizasyonun başlatılması ve sonlandırılması ve sinyal iletimi gibi pek çok işlevi ile periodontal dokulardaki patolojik değişimlerin başlaması ve ilerlemesinde, yara iyileşmesinde, organizasyon ve tamir dinamiğinde önemli rol oynar. ESM, periodontal hastalıklar sırasında proteinazlar tarafından yıkıma uğrattılır. İçeriği MMP'lere ve plazminojenlere bağlı yıkım reaksiyonları sonucu ortadan kaldırılır. Büyük parçalar lizozomal proteinazlar yardımıyla fagositik yol aracılığıyla yıkılırken, mineralize kısımlar osteoklastlar tarafından yönlendirilen ekstraselüler işlemlerle yıkıma uğrarlar. ESM'yi yıkan konak proteinazları içerisinde MMP'ler, periodontal hastalıklar sırasındaki kollajen doku yıkımı ve remodelling olayları ile en fazla ilişkili olduğu düşünülen ve son yıllarda üzerinde yoğunlaşılın proteinaz grubudur [111-113].

MMP'ler, eksternal bir uyarana cevap olarak fibroblastlar, nötrofiller, makrofajlar, kemik hücreleri, keratinositler ve endotelial hücreler tarafından sentezlenen, üretimleri büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından düzenlenen, çinko ve kalsiyuma bağımlı endopeptidazlardır [114,115]. Fizyolojik koşullarda proteinlerin remodelinginden, patolojik koşullarda ise yıkımından sorumludurlar. İnterstisyel ve bazal membran kollajenlerini, fibronektin, elastin ve laminin gibi ESM makromoleküllerini yıkan yaklaşık 20 farklı üyesi tespit edilmiştir [116].

Doğal olarak ESM içinde bulunurlar. Latent formda (inaktif, proenzim/zimojen) salgılanırlar ve daha sonra fiziksel, kimyasal veya enzimatik etkilerle aktive olurlar. Embriyolojik gelişim, tükürük bezleri morfogenezi, diş sürmesi ve ESM remodellingi gibi birçok fizyolojik olaydaki etkilerinin yanında, periodontal hastalıklar, yara iyileşmesi, artrit, kanser, tümör metastazları, ateroskleroz, pulmoner amfizem ve osteoporoz gibi birçok patolojik olayda rol alırlar. Fibroblastlar, epitel hücreleri, kemik hücreleri gibi konağa ait çeşitli doku hücreleri ve nötrofiller, makrofajlar, plazma hücreleri gibi periodonsiyuma infiltre olan savunma hücreleri tarafından sentezlenip salgılanırlar [116].

Periodontal dokularda dişeti ve periodontal ligament fibroblastları tarafından salgılananlar normal doku turnoverında rol oynarlar. Nötrofil, makrofaj ve plazma hücreleri gibi enflamatuvar hücrelerce salgılananlar bağlantı epitelinin apikale migrasyonuna ve laterale doğru genişlemesine neden olurlar. Epitel hücrelerinden salgılananlar da bağlantı epitelinin apikale migrasyonuna ve laterale doğru genişlemesine yol açarlar [116].

Farklı türleri tanımlanan MMP'ler 6 gruba ayrılırlar [117]:

1. Kollajenazlar:

- Kollajenaz-1 (fibroblast tip kollajenaz; MMP-1)
- Kollajenaz-2 (nötrofil tip kollajenaz; MMP-8)
- Kollajenaz-3 (MMP-13)
- Kollajenaz-4 (MMP-18)

2. Jelatinazlar:

- Jelatinaz A (MMP-2)

3. Stromelysinler:

- Stromelysin-1 (MMP-3),
- Stromelysin-2 (MMP-10),
- Stromelysin-3 (MMP-11)

4. Matrilysinler:

- Matrilysin (MMP-7)
- Matrilysin-2/Endometaz (MMP-26)

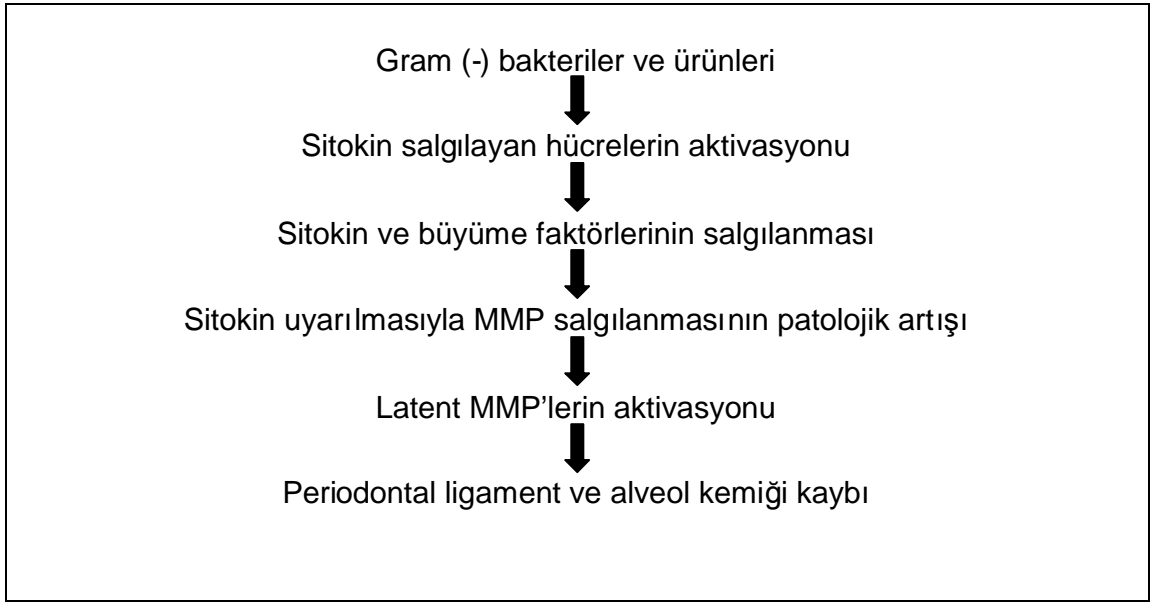
5. Membran tip MMP'ler (MT-MMP):

- MT1-MMP (MMP-14)
- MT2-MMP (MMP-15)
- MT3-MMP (MMP-16)
- MT4-MMP (MMP-17)
- MT5-MMP (MMP-24)
- MT6-MMP (MMP-25)

6. Diğerleri:

- Metalloelastaz (MMP-12)
- RASI, Stromelysin-4 (MMP-19)
- Enamelysin (MMP-20)
- XMMP (MMP-21, 22, 27)
- CA-MMP (MMP-23A, B)
- Epilysin (MMP-28)

Periodontal hastalıkların patofizyolojisinde, ortamdaki hücrelerin bakteriyel endotoksinler tarafından uyarılması konak cevabının başlamasındaki esas noktayı oluşturur. Bu uyarım sonucunda salgılanan sitokinler ve büyüme faktörleri gerek ortamdaki MMP'lerin aktivasyonunu gerekse üretilip ortama salınımını başlatırlar. Bu nedenle ortamdaki MMP'ler hastalık aktivitesinin arttığı durumlarda periodontal yıkım ile ilişkilendirilirler [116,118] (Bkz. Şekil 2.1).



Şekil 2.1 MMP aktivasyonu ve Periodontal yıkım ilişkisi [116]

MMP'lerin aktivitesi farklı yollarla kontrol edilir. Bunlardan ilki MMP'lerin kendine özgü inhibisyonunda rol alan, matriks metalloproteinaz doku inhibitörüdür. (*Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase - TIMP*) Dört üyesi olan bu aile, MMP'lerin hücre dışı aktivitelerini düzenleyen proteinlerdir. İkinci mekanizma; MMP'lerin inaktif formda salınması, aktif forma geçmek için bir uyarana ihtiyaç duymasıdır. Üçüncü olarak; MMP'lerin çoğu çözülebilir tipte hücrelerden salınır. MT-MMP'ler denilen farklı tipteki MMP'ler ise salınmazlar, ancak hücre yüzeyinde işlev görürler. Aktive olmuş MMP ve konak kaynaklı endojen inhibitörleri arasındaki dengenin bozulması, periodontal sağlığın kaybedilip hastalığın başladığını ifade eder [119].

MMP'lerin periodontal yıkımdaki rolleri, 30 yılı aşkın süredir pek çok in vitro / in vivo hayvan ve insan çalışmalarında araştırılmıştır. Ryan ve Golub [120] yaptıkları öncü çalışmada iltihaplı dişeti hücrelerini kültüre etmiş ve kollajenaz seviyelerinin arttığını tespit etmişlerdir. Heath ve ark.'nın [121] iltihaplı dişeti hücrelerini kültüre ederek yaptıkları çalışmada da kollajenaz aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda, DOS ve iltihaplı dişeti dokusunda yapılan incelemelerde kollajenaz aktivitelerinin patolojik olarak yükseldiği rapor edilmiş [122-130] ayrıca MMP inhibitörlerinin periodontal hastalığındaki rollerine ait bulgular da elde edilmiştir [122,131]. Bu çalışmalarda yine MMP aktif formlarının varlığı periodontitisin

aktif fazıyla ilişkilendirilmiş [16,132-136] ve DOS örneklerinin incelendiği çalışmalarda tedavi sonrasında kollajenaz aktivitelerinin düştüğü veya latent formların baskın hale geçtiği bulunmuştur [21,138].

Son 10 yılda MMP'ler ve endojen inhibitörlerine ait farklı gereç ve yöntemlerin kullanıldığı çalışmalarda, periodontal ataşman ve kemik kaybı ile karakterize periodontal hastalıklarda MMP'lerin yıkıcı rolleri ortaya konmuş, dişetindeki ve kök yüzeyine yapışık haldeki kollajen fibrillerin parçalanması ve epitelin apikal ve lateral proliferasyonu ile başlayan periodontal lezyonların, mikroorganizma-konak etkileşimi sırasında konak hücreleri tarafından salgılanan interstisyel kollajenaz aktivitesiyle başlayıp ilerlediği kabul edilmiştir [8,16,111,130].

2.4.2 Matriks Metalloproteinaz 8 (MMP-8)

Dişeti ve periodontal ligament fibroblastları tarafından salgılanan MMP'lerin normal doku turnover'ında rol oynadığı kabul edilirken, özellikle enflamatuvar hücreler, periodontitis gibi enflamatuvar hastalıklarda doku yıkımı yapan proteinazların esas kaynakları olarak görülmektedir [111,112]. Günümüze dek yapılan çalışmalarda periodontitiste bu enzimlerden özellikle MMP-8'in doku yıkıcı özellikleriyle vurgulanması dikkate değerdir. IL-1, IL-8 ve TNF- α gibi çeşitli sitokinler; nötrofillerden MMP-8 salınımını uyarır ve periodontal hastalıklardaki gibi ESM'de yıkımı başlatır [140]. Ortamda MMP-3, MMP-7, MMP-13 ve MMP-14 varlığı da MMP-8'in aktivasyonunu tetikler [141].

MMP-8 iltihaplı dişeti, DOS ve tükürükte en fazla bulunan ve periodontal yıkımla direkt ilişkilendirilen ana kollajenazdır [8,16,112,126,130,134-136,141-144]. Enzimin aktif formu aktif bağ dokusu yıkımı ile ilişkilendirilir ve klinik teşhiste periodontal hastalık aktivitesini belirler [129,134,141,144].

Sorsa ve ark. [146] yaptıkları çalışma sonucunda; KP'li hastalar ve sağlıklı bireylerde DOS ve dişeti örneklerini incelemiş ve enflamasyon esnasında ortaya çıkan kollajenazların nötrofil kaynaklı olduğunu ve dolayısıyla MMP-8 seviyesini yansıttığını bildirmiştir. Ingman ve ark. [125] yaptıkları çalışma sonunda KP'li hastalarda DOS ve tükürük örneklerinde MMP-8'in dominant olduğu ve bu kollajenazın periodontal sağlık ile periodontal hastalıkların monitorize edilmesinde kullanılabileceğini öne sürmüştür. Tervahartiala ve ark. [141] çalışmalarında; KP, lokalize agresif periodontitis ve sağlıklı bireylerden oluşan gruplardan aldıkları dişeti örneklerinde hibridizasyon ve immüno-histokimyasal metotla MMP-7, MMP-8 ve MMP-13 tespiti yapmışlardır. Tüm

gruplarda MMP-7 bulunmuş, KP'li hastalarda ise MMP-8 yoğun olarak tespit edilmiştir. MMP-13 ise KP'li ve lokalize agresif periodontitisli hastalarda sağlıklı olanlara göre daha fazla bulunmuştur. Araştırmacılar MMP-8 ve MMP-13 varlığının teşhiste kullanılabilecek önemli bir marker olabileceğini belirtmişlerdir. Mantyla ve ark. [135] çalışmalarında; sigara içen ve sigara içmeyen KP'li hastaların DOS örneklerinde 'ELISA' yöntemiyle MMP-8 seviyelerini incelemişlerdir. Bu çalışmada artmış MMP-8 seviyelerinin hastalık riskini artırdığı ortaya konmuş ve MMP-8'in teşhiste ve idame tedavisinde önemli bir marker olabileceği görüşünü ortaya koymuştur.

Yapılan çalışmalarda, MMP-8'in iltihaplı dişeti, DOS ve tükürük örneklerinde yüksek miktarda bulunması, aktif kollajen yıkımıyla ilişkilendirilmektedir ve teşhiste bir marker olarak kabul edilebileceğini göstermektedir [125,135,141].

2.5 Periodontal Hastalıkların Tedavisi

Periodontal tedavinin amacı; periodontal dokulardaki enflamasyonun ortadan kaldırılarak, gerçekleşecek doku yıkımının durdurulması ve hastalığın tekrarının engellenmesidir. Bunun için dört temel yaklaşım uygulanır. Bunlar; patolojik türlerin eliminasyonu veya baskılanması, mikroflorada faydalı türlerin artışının sağlanması, hastalığın ilerlemesini engelleyecek şekilde çevresel şartların değiştirilmesi ve konak cevabının enfeksiyona daha dirençli hale getirilmesidir.

Periodontal hastalıkların primer etyolojik nedeni bakteri plağı olduğundan, hastalığın tedavisi ve ilerlemesinin engellenmesi için sert ve yumuşak eklenilerin mekanik yolla uzaklaştırılması, gerek hasta gerekse hekim tarafından gerçekleştirilen bir işlemdir. Ancak birçok hasta bu işlemleri gerektiği gibi yapmakta zorluk çekmekte, yine bazı durumlarda hekim tarafından yapılan mekanik tedavi de yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle, mekanik tedaviye ek olarak, antiseptikler ya da antibiyotikler gibi bir takım kemoterapötik ajanlardan faydalanılmaktadır. Son zamanlarda plak kontrolü dışında, mikroorganizmalara karşı konağın verdiği immün cevabın modifiye edilmesi ile ilgili düşünceler gelişmiştir. Periodontal doku yıkımında enflamatuvar cevabın büyük rolü vardır. Plakta bulunan bakteriler ve onların ürünleri doğrudan ya da dolaylı yollardan konak savunma mekanizmasını devreye sokarak enflamatuvar bir sürecin başlamasına neden olup, periodontal dokuların yıkımına sebebiyet vermektedir. Bu durum, periodontal hastalıklarda non-steroidal anti-enflamatuvar (NSAİ) ilaçlardan yararlanarak mevcut enflamatuvar sürece müdahale etme fikrini doğurmuştur [147]. Periodontal hastalıkların tedavisinde konak cevabının

düzenlenmesi ile ilgili araştırmalar, ilk olarak Goldhaber ve Williams'ın 1977'de non-steroidal anti-enflamatuvar ilaçların, periodontal hastalık sonucu oluşan kemik kaybını azaltıcı etkisini incelemeyi planladıkları çalışmalar ile başlamıştır [145]. Bunu takiben, çeşitli non-steroidal anti-enflamatuvar ilaçların tek başına ya da tetrasiklinlerle kombine kullanımının, periodontal doku yıkımını azalttığını gösteren çalışmalar yapılmıştır [112,139,152,156,157].

2.5.1 Non-steroidal Anti-enflamatuvar İlaçlar

NSAI'ler analjezik, antipiretik ve anti-enflamatuvar etkilerinden dolayı çeşitli durumlarda kullanılmaktadır. Anti-enflamatuvar etkileri sayesinde enflamasyonun dört ana belirtisi olan, ağrı, şişlik, kızarıklık, ısı artışı gibi lokal olayları azaltır ya da ortadan kaldırır [148,149].

Herhangi bir nedenle gerçekleşen doku zedelenmesi sonucu, vücutta bazı immünolojik reaksiyonlar gerçekleşir. Bu reaksiyonlar sonucunda lokal araşidonik asitten prostasiklin ve prostaglandinlerin sentezi artar [149,150]. Araşidonik asit, hücre membranlarında bulunan bir yağ asitidir. Bunun hücre tarafından kullanılabilir hale gelmesi için bir takım medyatrlere gereksinim vardır. Araşidonik asit, hücresel fosfolipazların aktivasyonuyla membran fosfolipitlerinden serbestleşir. Enflamasyon esnasında, nötrofil lizozomlarının önemli bir fosfolipaz kaynağı olduğu düşünülmektedir. C5a gibi kimyasal medyatörler de fosfolipazları aktive ederek, araşidonik asit metabolizmasını başlatabilirler.

Araşidonik asit metabolizması siklooksijenaz ve lipooksijenaz olmak üzere iki temel yoldan gerçekleşir. Siklooksijenaz yoldan prostaglandin, prostasiklin ve tromboksanlar, lipooksijenaz yoldan ise lökotrienler oluşur. Bu medyatörler enflamasyonun gelişiminde ve seyrinde önemli rol oynarlar.

Araşidonik asit metabolitlerinin, periodontal hastalık patogenezinde önemli bir yere sahip olduğu düşünüldüğünde, NSAI'lerin hastalığın kontrolünde etkili olabileceği sonucuna varılabilir. Ntekim; yapılan klinik ve laboratuvar çalışmalarda indomethazin [151], ibuprofen [152], piroxicam [153], flurbiprofen [40,154,157], naproxen [158,159], gibi birçok NSAI'nin alveoler kemik rezorpsiyonunu azalttığı bulunmuştur.

NSAI'lerin hemen hepsi araşidonik asit metabolizması esnasında gerçekleşen siklooksijenaz yolu inhibe ederek, prostaglandinlerin sentezini etkiler. Enflamasyonlu dokularda araşidonik asit metabolitlerinin ve özellikle PGE₂'nin arttığı bilinmektedir [150]. PGE₂'nin T-baskılayıcı lenfositleri inhibe edici etki yaptığı bulunmuştur. Ayrıca

doğal öldürücü hücreleri de baskılar. NSAİ'ler tarafından PGE₂'nin sentezinin baskılanması, T-baskılayıcı lenfositlerin inhibisyonundan kurtulmasını ve dolayısıyla, T-yardımcı lenfositler ile B lenfositlerin baskılanması sonucunu doğurur. Böylece enflamasyonda rol oynayan birçok faktörün üretimi azalarak, enflamasyon belirtileri azaltılmış olur [149].

Enflamasyonlu dokularda toplanan PMNL'ler prostaglandin, tromboksan, lökotrien ve serbest oksijen radikalleri haricinde, beta-glukuronidaz, myeloperoksidaz, lizozim, kollajenaz, elastaz, proteoglukanaz ve katepsinler gibi çeşitli proteolitik lizozomal enzimler salarlar [98,160,161]. Bu enzimler pro-enflamatuvar etkinliğin yanı sıra, kemik, kollajen ve diğer dokuların yıkımına neden olurlar. NSAİ'lerin çoğu lizozom membranı stabilizasyonu yoluyla, pro-enflamatuvar etkinlik gösteren lizozomal enzimlerin salınımını inhibe edebilirler [98,149].

Tenoxicam, oxicam grubundan tienotiazin türevidir; anti-enflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkiye sahip bir ajandır. Tenoxicam, hem in vitro hem de in vivo olarak, güçlü bir prostaglandin biyosentez inhibitörüdür. Bunun dışında nötrofillerin migrasyon ve fagositozunu azalttığı, lizozomal enzimler ve histamin salınımını inhibe ettiği bildirilmiştir [63,149]. İnvitro lökosit peroksidaz testleri, tenoxicamın enflamasyon bölgesindeki aktif oksijeni bertaraf ettiğini de göstermektedir. Bu farmakolojik özellikleri tenoxicam'ın enflamatuvar ve dejeneratif hastalıklarda başarıyla kullanılmasını beraberinde getirmektedir. Oral uygulamadan sonra sindirim kanalından değişmeden emilir. Etkisini kısa sürede gösterir. Gastrotoksik etkisi çok düşüktür. Tok karnına ya da antasitlerle birlikte alınınca absorpsiyon oranı değişmez. Parenteral ve oral uygulamalardan sonraki farmakokinetiği benzerdir. % 100 biyoyararlığı, yaklaşık % 99'luk kan proteinlerine bağlanma oranı vardır. Düşük sistemik klerans ve eliminasyon yarılanma süresine (70 saat) sahiptir. Uzun süreli kullanımlarda vücutta birikim yapmaz. İlaç etkileşimi çok düşüktür. Yaşlılarda, böbrek veya karaciğer yetmezliği olanlarda doz ayarlaması gerekmez. Farmakolojik özellikleri piroxicama benzerdir [63,137,155]. Yarılanma ömrü uzun olduğundan, günde bir kez 20 mg verilmesi yeterlidir. Önerilen 20 mg'lık günlük dozlarında genelde iyi tolere edildiği bildirilmektedir. İstenmeyen klinik etkiler görülen hasta oranının % 12.5 dolayında olduğu, bu etkilerin de genellikle hafif ve geçici olduğu, tedaviye devam edilse bile ortadan kaybolabildiği belirtilmektedir. En sık görülen yan etkiler gastrointestinal sistemle ilgilidir. Bunlar; mide yanması, mide bulantısı, diyare, konstipasyon vb. dir.

MATERYAL ve METOD

3.1 Hasta Seçimi ve Çalışma Planı

Çalışmaya, Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesine farklı nedenlerle başvuran toplam 48 birey dahil edildi. Bireylerden 16'sı başlangıç periodontal tedavi eşliğinde NSAİ (Tenoxicam) kullanan kronik periodontitisli, 16'sı başlangıç periodontal tedavi eşliğinde plasebo kullanan kronik periodontitisli ve 16'sı periodontal sağlıklı birey olmak üzere 3 eşit gruba ayrıldı. NSAİ ve plasebo kullanan gruplar deney grubu, periodontal sağlıklı grup ise kontrol grubu olarak belirlendi. NSAİ (tenoxicam) ve plasebonun, deney gruplarındaki bireylere, tedavinin başlangıcından itibaren 10 gün süreyle 1 x 20 mg şeklinde verilmesine karar verildi. Kronik periodontitis hastalarının ölçüm bölgesinde, radyografik olarak kemik kaybı gözlenen ve 4-6 mm sondlama derinliğine sahip en az 4 periodontal cebin olmasına dikkat edildi. Deney grubundaki bireylere yapılacak başlangıç periodontal tedavide; oral hijyen eğitimi, supragingival diştaşı temizliği, subgingival diştaşı temizliği, kök yüzeyi düzleştirilmesi ve polisaj işlemlerinin yapılması planlandı. Kontrol grubuna ise hiçbir işlem uygulanmadı. Çalışma başlangıcında gerekli etik kurul onayı, Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Etik Kurulu'ndan alındı. Çalışmaya dahil edilen bireylere araştırma ile ilgili detaylı bilgiler verildi. Ayrıca, çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul edenlerden onam formları alındı. Hasta seçiminde ayrıca aşağıdaki kriterlere riayet edildi;

- 1) Herhangi bir sistemik rahatsızlığının bulunmaması
- 2) Son altı ay içerisinde antibiyotik, antienflamatuvar veya santral sinir sistemini etkileyecek ilaçları kullanmamış olması
- 3) Son altı ay içinde periodontal tedavi görmemiş olması
- 4) Herhangi bir madde bağımlısı olmaması ve sigara içmemesi
- 5) Ölçüm bölgesindeki dişlerde herhangi bir protetik restorasyon bulunmaması
- 6) İlaç almasını gerektirebilecek, akut bir ağrısının olmaması
- 7) Hamile olmaması

Araştırma kapsamına alınan hastaların ilk önce klinik ve radyografik değerlendirmeleri yapıldı. Her bir bireyin periodontal durumunu saptamak amacıyla çalışma başlangıcında tüm bireylerde Gingival İndeks (Gİ), Plak İndeksi (Pİ), Sondlama Cep Derinliği (SCD), Dişeti Kanama Zamanı İndeksi (DKZİ) ve Ataşman Seviyesi

(AS) ölçümleri tek bir araştırmacı tarafından gerçekleştirildi. Tüm ölçümler tedavi öncesi ve tedaviden sonraki onuncu günde yapılarak kaydedildi.

3.2 Klinik İndeks ve Ölçümler

Plak İndeksi Skorları (Silness ve Loe) [163]

0: Dişeti bölgesinde bakteri plağı yok.

1: Çıplak gözle fark edilemeyen, ancak sond ucunun gingival sulkusta gezdirilmesiyle açığa çıkarılan plak varlığı.

2: Gözle görülür tarzda dişeti kenarında ve diş yüzeyinde orta dereceli plak varlığı.

3: Dişetinde ve diş yüzeyinde yoğun yumuşak birikintilerin mevcudiyeti.

Gingival İndeks Skorları (Loe ve Silness) [164]

0: Sağlıklı dişeti.

1: Hafif iltihap, hafif renk değişikliği, hafif ödemle karakterize dişeti, sondlamada kanama yok.

2: Orta dereceli iltihap, dişeti parlak, kırmızı ve ödemlidir. Sondlamada kanama vardır.

3: Şiddetli iltihap, belirgin kırmızılık ve ödem vardır. Ülserasyonlar ve spontan kanamaya meyil mevcuttur.

Sondalama Cep Derinliği (SCD)

Cep derinliklerinin tespitinde Williams periodontal sondundan¹ yararlanıldı. Ölçüm sırasında sondanın basınç uygulamaksızın kendi ağırlığı ile dişlerin uzun eksenine paralel olarak konumlandırılmasına dikkat edildi. Tüm dişlerin distobukkal, bukkal, meziobukkal, distolingual, lingual ve meziolingual bölgelerinden olmak üzere altı noktadan SCD ölçümleri yapıldı. Ölçümler milimetre cinsinden kaydedildi.

Ataşman Seviyesi (AS)

Çalışma alanlarında ataşman seviyesi ölçümleri, mine-sement sınırı referans alınarak gerçekleştirildi. Ölçümlerde Williams periodontal sondu¹ kullanıldı. Ataşman seviyesi, cep tabanı ile mine-sement sınırı arasında kalan mesafenin milimetrik olarak ölçümüyle bulundu.

Dişeti Kanama Zamanı İndeksi (DKZİ)(Nowicki) [162]

Sondlamada meydana gelen dişeti kanamasının değerlendirilmesinde Nowicki ve ark.'nın [162] tanımlamış olduğu Dişeti Kanama Zamanı İndeksinden (DKZİ) yararlanıldı. Ölçümler sırasında periodontal sond hafif bir direnç hissedilinceye kadar

¹ ¹ Hu Friedy, Chiago, USA

dişeti oluşuna yerleştirildi ve 2 mm mesafede oluk içinde dişetine çok hafif bir basınç uygulanmak suretiyle gezdirildi. Sondun uzaklaştırılmasından sonra oluşan kanama zamanı titizlikle tespit edildi. İlk uygulamadan sonra 15 sn. içerisinde kanama oluşmamış ise, işlem tekrarlanarak bir 15 sn. daha beklenildi.

İndeks skorları aşağıdaki kriterlere göre kayıt edildi:

0-İkinci stimülasyondan sonra, 15 saniye içerisinde kanama yok

1-İkinci stimülasyondan sonra, 6-15 saniye arasında kanama var

2-Birinci stimülasyondan sonra, 11-15 saniye ve ikinci stimülasyondan sonra 5 saniye içinde kanama var

3-Birinci stimülasyondan sonra, 10 saniye içerisinde kanama var

4-Spontan kanama var

3.3 Diş Eti Oluşu Sıvısının Örneklenmesi

Çalışma grubundaki her hastadan, kontaminasyon riskinin en aza indirilebilmesi amacıyla, üst çene anterior bölgede 4-6 mm'lik SCD ve GI>1 olan 4 bölge dişeti oluşu sıvısı örnekleme için seçildi. DOS örnekleri, tüm bireylerden plak indeksi (Pİ) haricinde klinik ölçümler yapılmadan, tedavi öncesi ve tedavileri takip eden 10. günde toplandı. DOS elde edilecek dişler pamuk tamponlarla tükürükten tamamen izole edildi. Diş yüzeyleri hava spreyi ile hafifçe kurutuldu. Örnekleme öncesinde, DOS hacmine etki edebilecek olan, diş yüzeyindeki plak ve yumuşak eklentiler, dişetine dokunulmadan, pamuk peletler yardımıyla dikkatli bir şekilde bölgeden uzaklaştırıldı. Tüm DOS örnekleme işlemlerinin belli saatler arasında gerçekleştirilmesine çalışıldı. Örnek alma süresi 30 saniye olarak standardize edildi. DOS örnekleme işlemlerinin bireylerin öğünlerinden ve diş fırçalamalarının üzerinden en az 1 saat geçtikten sonra yapılmasına dikkat edildi. DOS'un toplanmasında, boyutları ve emiciliği standart olan 2x14 mm ebatlarındaki kağıt şeritlerden (Periopaper®)* yararlanıldı. DOS örnekleri, Rudin ve ark.'nın [86] tarif ettiği yöntemle uyularak toplandı. Bu yöntem gereği kağıt şeritler dişeti cebi/oluşu derinliğinden bağımsız olarak her olguda 1mm. derinlikte olacak şekilde yerleştirildi. Kan ve tükürükle kontamine olan periopaperlar işlem dışı bırakıldı. Sonrasında periopaper'lar Eppendorf tüplere konularak analiz gününe kadar -80°C de saklandı.

* Periopaper, Proflow, USA

3.4 Periodontal Tedavi

Seçim kriterlerine uygunluk gösteren tüm hastalar, periodontal hastalıklar ve sonuçları, periodontal hastalığın nedeni olan mikrobiyal dental plak, mikrobiyal dental plaktan korunma yöntemleri hakkında bilgilendirildi. Kronik periodontitisli hasta gruplarına ayrıca, yapılacak olan periodontal tedaviler hakkında detaylı bilgiler verildi ve çalışmaya dahil edilen tüm hastaların onayları alındı. Tüm hastalara oral hijyen eğitimi verilerek, günde iki kez, sabah ve akşam dişlerini fırçalamaları ve fırçalamayı takiben arayüz temizliği yapmaları öğütüldü. Kronik periodontitisli hastalara, diş/kök yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme işlemlerini içeren başlangıç periodontal tedavi [165] uygulandı. Hastaların, verilen hijyen eğitimini doğru uygulayıp uygulamadıkları da kontrol edilerek gerekli düzeltmeler yapıldı.

3.5 Tümör Nekrozis Faktör-Alfa (TNF- α) Seviyelerinin ELISA ile Tespiti

TNF- α miktarı, bu sitokin için özel üretilmiş olan Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA) kiti (invitrogen Human TNF- α Immunoassay kit) kullanılarak DOS'ta saptandı.

3.5.1 Human TNF- α Reaktiflerin Hazırlanması

Yıkama Solüsyonu

2500 ml distile su ile 100 ml yıkama solüsyonu karıştırılarak hazırlandı. (25x)

TNF- α Standart

1000 pg/ml olan (S1) stok standarttan, seri dilüsyonla diğer standartlar hazırlandı.

(1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,3 pg/ml, 15,6 pg/ml, 0,01 pg/ml)

Streptavidin-HRP

100x konsantre halde olan streptavidin-HRP, kuyucuk sayısına göre hazırlandı. (120 μ l streptavidin-HRP + 12 ml dilüent gibi)

3.5.2 Örneklerin Hazırlanması

Eppendorf tüplere alınıp -80°C 'de saklanan örneklerin üzerine 1000 μ l. pH: 7,4 PBS eklendi. Periopaper'lar tek kullanımlık pipetlerle ezildikten sonra vorteksenerek, DOS örneklerinin tampon solüsyona maksimum düzeyde ekstraksiyonu sağlandı. Daha sonra

tampon solüsyon içindeki peripaper kalıntılarının tamamen dibe çökmesini sağlamak için, örnekler santrifüj edildi.

3.5.3 Test Protokolü

Yeterli sayıda kuyucuk (*well*) hazırlandı. Standart ve örneklerin konulacağı tüm kuyucuklara 50 µl inkübasyon solüsyonu (*incubation buffer*) eklendi. Sırayla, kuyucuklara hazırlanan standart dilüsyonlardan 100 µl pipetlendi. Hazırlanan örneklerden 100 µl pipetlendi. Plate'in üzeri kapatılarak oda sıcaklığında (18-25⁰C) 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda plate açılarak 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl *biotin-conjugat* pipetlendi. Plate'in üzeri kapatılarak oda sıcaklığında (18-25⁰C) mikroplate 1 saat inkübe edildi. Plate açılarak 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. Tüm kuyucuklara hazırlanan 100 µl Streptavidin-HRP pipetlendi. Plate'in üzeri kapatılarak oda sıcaklığında (18-25⁰C) mikroplate 30 dakika inkübe edildi. Plate açılarak 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl Cromogen (*TMB Substrat*) solüsyonu pipetlendi. 30 dakika karanlıkta oda sıcaklığında inkübe edildi. 100 µl durdurma (*stop*) solüsyonu eklenerek reaksiyon sonlandırıldı. Spektrofotometrede 450 nm uygun grafik özellikleri ile okutuldu.

3.5.4 Sonuçların Değerlendirilmesi

Standart konsantrasyonları ve bu konsantrasyonlara ait absorbans değerleri ile standart eğri oluşturuldu. Bu eğri kullanılarak örnek absorbans değerlerinden konsantrasyon değerleri alındı. Alınan değerler dilüsyon oranları ile çarpılarak gerçek konsantrasyonlara ulaşıldı.

3.6 MMP-8 Seviyelerinin ELISA ile Tespiti

MMP-8 miktarı, bu enzim için özel üretilmiş olan Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA) kiti (RayBio[®] Human MMP-8 ELISA Kit) kullanılarak DOS'ta saptandı.

3.6.1 Human MMP-8 Reaktiflerin Hazırlanması

Yıkama Solüsyonu

400 ml distile su ile 20 ml yıkama solüsyonu karıştırılarak hazırlandı. (20x)

Assay Diluent

75 ml distile su ile 15 ml assay dilüent karıştırılarak hazırlandı. (5x)

MMP-8 Standart

400 µl hazırlanmış assay dilüent ile sulandırılan 50 ng/ml stok standart dilüe edilerek tüm standartlar hazırlandı.

(6000 pg/ml, 2000 pg/ml, 666,7 pg/ml, 222,2 pg/ml, 74,07 pg/ml, 24,69 pg/ml, 8,23 pg/ml, 0,01 pg/ml)

Streptavidin-HRP

3000x konsantre halde bulunan streptavidin-HRP, kuyucuk sayısına göre hazırlandı. (2 µl streptavidin-HRP + 198 µl assay dilüent ile 1/100 hazırlandıktan sonra 15 ml assay dilüent 50 µl 1/100' lük ile karıştırılarak 1/30000 hazırlandı)

Biotinylated Antibody

100 µl assay dilüent ile çözüldü ve 80x oranında hasta sayısına göre hazırlandı.

3.6.2 Örneklerin Hazırlanması

Eppendorf tüplere alınıp -80°C ' de saklanan örneklerin üzerine 1000 µl. pH: 7,4 PBS eklendi. Periopaper'lar tek kullanımlık pipetlerle ezildikten sonra vortekslenerek, DOS örneklerinin tampon solüsyona maksimum düzeyde ekstraksiyonu sağlandı. Daha sonra tampon solüsyon içindeki periopaper kalıntılarının tamamen dibe çökmesini sağlamak için, örnekler santrifüj edildi.

3.6.3 Test Protokolü

Yeterli sayıda kuyucuk (*well*) hazırlandı. Sırayla, kuyucuklara hazırlanan standart dilüsyonlardan 100 µl pipetlendi. Hazırlanan örneklerden 100 µl pipetlendi. Plate'in üzeri kapatılarak oda sıcaklığında 4°C 'de bir gece inkübe edildi. İnkübasyon sonunda plate açılarak 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. (otomatik yıkayıcı) Tüm kuyucuklara 100 µl biotin-antibody pipetlendi. Plate'in üzeri kapatılarak oda sıcaklığında ($18-25^{\circ}\text{C}$) mikroplate 1 saat inkübe edildi. Plate açılarak 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. (otomatik yıkayıcı) Tüm kuyucuklara hazırlanan 100 µl Streptavidin-HRP pipetlendi. Plate'in üzeri kapatılarak oda sıcaklığında ($18-25^{\circ}\text{C}$) mikroplate 45 dakika inkübe edildi. Plate açılarak 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl Cromogen (*TMB Substrat*) solüsyonu pipetlendi. 30 dakika karanlıkta oda sıcaklığında inkübe edildi. 50 µl durdurma (*stop*) solüsyonu eklenerek reaksiyon sonlandırıldı. Spektrofotometrede 450 nm uygun grafik özellikleri ile okutuldu.

3.6.4 Sonuçların Değerlendirilmesi

Standart konsantrasyonları ve bu konsantrasyonlara ait absorbans değerleri ile standart eğri oluşturuldu. Bu eğri kullanılarak örnek absorbans değerlerinden konsantrasyon değerleri alındı. Alınan değerler dilüsyon oranları ile çarpılarak gerçek konsantrasyonlara ulaşıldı.

3.7 Verilerin istatistiksel Analizi

Çalışmamızın verileri SPSS (Ver: 14.0) programına yüklenerek, grup içi verilerin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi, gruplar arası farklılıkların değerlendirilmesinde Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal Wallis testi sonucu farklılık gösteren grup ya da grupların tespitinde Mann Whitney U testinden faydalanılmıştır. Değişkenler arası ilişkinin yönünü ve miktarını belirlemek için de korelasyon analizi yapılmıştır. Verilerimiz çizelgelerde, aritmetik ortalama \pm standart sapma şeklinde belirtilmiş ve yanılma düzeyi $P=0,05$ olarak alınmıştır.

BULGULAR

4.1 Klinik Bulgular

Araştırmaya katılan 48 bireyin grup, yaş ve cinsiyet bilgileri Çizelge 3'te özetlenmiştir:

Çizelge 4.1 Gruplara ait yaş ve cinsiyet ortalamaları ve standart sapmaları

Gruplar	Yaş	Cinsiyet		Toplam
		E	K	
İlaç	40,87 ± 8,20	9	7	16
Plasebo	42,31 ± 7,27	9	7	16
Sağlıklı	38,25 ± 6,99	8	8	16

Çizelge 4.1'de de görüldüğü gibi; bu çalışmada ilaç, plasebo ve sağlıklı olmak üzere üç grup bulunmakta ve her grupta 16'şar birey yer almaktadır. İlaç grubundaki bireylerin yaş ortalaması $40,87 \pm 8,20$, plasebo grubundaki bireylerin yaş ortalaması $42,31 \pm 7,27$, sağlıklı gruptaki bireylerin yaş ortalaması da $38,25 \pm 6,99$ olarak bulunmuş ve yaş yönünden gruplar arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır. (KW=2,85 ; P=0,240 ; P>0,05)

İlaç grubuna ait, ölçüm bölgesi ve tüm ağız, tedavi öncesi ve sonrası klinik verilerin durumu Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 İlaç grubu tüm ağız ve ölçüm bölgesine ait tedavi öncesi ve tedavi sonrası klinik ölçüm değerlerinin karşılaştırması

	Tedavi Öncesi $X \pm S$	Tedavi Sonrası $X \pm S$	Sonuç
Pİ (Ölçüm Bölgesi)	1,38 ± 0,47	0,56 ± 0,31	P=0,001 *
Pİ (Tüm Ağız)	1,50 ± 0,28	0,81 ± 0,35	P=0,001 *
Gİ (Ölçüm Bölgesi)	2,13 ± 0,22	1,54 ± 0,19	P=0,001 *
Gİ (Tüm Ağız)	2,17 ± 0,27	1,63 ± 0,16	P=0,001 *
CD (Ölçüm Bölgesi)	3,64 ± 0,50	2,92 ± 0,40	P=0,001 *
CD (Tüm Ağız)	3,28 ± 0,56	2,58 ± 0,43	P=0,001 *
DKZİ (Ölçüm Bölgesi)	3,03 ± 0,30	1,31 ± 0,49	P=0,001 *
DKZİ (Tüm Ağız)	3,01 ± 0,41	1,50 ± 0,51	P=0,001 *
Ataşman (Ölçüm Bölgesi)	3,67 ± 0,90	3,67 ± 0,89	P=0,317 P>0,05
Ataşman (Tüm Ağız)	3,62 ± 0,75	3,62 ± 0,75	P=0,066 P>0,05

* P<0,05

Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi; İlaç grubunda ölçüm bölgesi ve tüm ağıza ait tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçümler karşılaştırıldığında ; Pİ ÖB (ölçüm bölgesi) , Pİ TA (tüm ağız) , Gİ ÖB, Gİ TA, CD ÖB, CD TA, DKZİ ÖB, DKZİ TA değerleri açısından tedavi öncesi ve sonrası ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş (P<0,05) bulunurken; Ataşman ÖB ve Ataşman TA değerleri yönünden ölçümler arası istatistiksel olarak fark (P>0,05) bulunamamıştır.

Plasebo grubuna ait, ölçüm bölgesi ve tüm ağız, tedavi öncesi ve sonrası klinik verilerin durumu Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3 Plasebo grubu tüm ağız ve ölçüm bölgesine ait tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçüm değerlerinin karşılaştırması

	Tedavi Öncesi X ± S	Tedavi Sonrası X ± S	Sonuç
Pİ (Ölçüm Bölgesi)	1,27 ± 0,41	0,48 ± 0,40	P=0,001 *
Pİ (Tüm Ağız)	1,48 ± 0,31	0,70 ± 0,37	P=0,001 *
Gİ (Ölçüm Bölgesi)	2,02 ± 0,09	1,49 ± 0,36	P=0,001 *
Gİ (Tüm Ağız)	2,13 ± 0,12	1,60 ± 0,25	P=0,001 *
CD (Ölçüm Bölgesi)	3,67 ± 0,58	2,95 ± 0,50	P=0,001 *
CD (Tüm Ağız)	3,48 ± 0,71	2,90 ± 0,60	P=0,001 *
DKZİ (Ölçüm Bölgesi)	2,82 ± 0,28	1,27 ± 0,70	P=0,001 *
DKZİ (Tüm Ağız)	2,96 ± 0,35	1,60 ± 0,60	P=0,001 *
Ataşman (Ölçüm Bölgesi)	4,08 ± 1,02	4,07 ± 1,02	P=0,180 P>0,05
Ataşman (Tüm Ağız)	4,16 ± 1,00	4,15 ± 0,99	P=0,102 P>0,05

* P<0,05

Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi; plasebo grubunda ölçüm bölgesi ve tüm ağıza ait tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçümler karşılaştırıldığında; Pİ ÖB (ölçüm bölgesi), Pİ TA (tüm ağız), Gİ ÖB, Gİ TA, CD ÖB, CD TA, DKZİ ÖB, DKZİ TA değerleri açısından tedavi öncesi ve sonrası ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı (P<0,05) bir düşüş tespit edilmiş; Ataşman ÖB ve Ataşman TA değerleri yönünden, ölçümler arası tespit edilen azalma istatistiksel olarak anlamlı (P>0,05) bulunamamıştır.

Tedavi öncesi ölçüm bölgesi değerlerinin gruplar arası karşılaştırması Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4 Gruplara ait tedavi öncesi ölçüm bölgesi değerlerinin karşılaştırması

	İlaç Grubu	Plasebo Grubu	Sağlıklı Grup	Sonuç
Pİ	1,38 ± 0,47	1,27 ± 0,41	0,21 ± 0,17	KW=31,30 P=0,001 *
Gİ	2,13 ± 0,22	2,02 ± 0,09	0,24 ± 0,26	KW=32,24 P=0,001 *
CD	3,64 ± 0,50	3,67 ± 0,58	1,55 ± 0,29	KW=31,38 P=0,001 *
DKZİ	3,03 ± 0,30	2,82 ± 0,28	0,02 ± 0,04	KW=33,37 P=0,001 *
Ataşman	3,67 ± 0,90	4,08 ± 1,02	0,00 ± 0,00	KW=32,86 P=0,001 *

* P<0,05

Çizelge 4.4'te izlendiği gibi; gruplara ait tedavi öncesi Pİ ÖB değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur (P<0,05). Gruplara ait tedavi öncesi Pİ değerleri ikişerli karşılaştırıldığında; ilaç grubuyla - sağlıklı bireyler, plasebo grubuyla - sağlıklı bireyler arasındaki farklılık anlamlı bulunurken (P<0,05), plasebo ve ilaç grubu arasında fark bulunamamıştır (P>0,05). Aynı durum Gİ, CD, DKZİ, ve ataşman değerleri için de söz konusudur.

Tedavi sonrası ölçüm bölgesi değerlerinin gruplar arası karşılaştırması Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5 Gruplara ait tedavi sonrası ölçüm bölgesi değerlerinin karşılaştırılması

	İlaç Grubu	Plasebo Grubu	Sağlıklı Grup	Sonuç
Pİ	0,56 ± 0,31	0,48 ± 0,40	0,21 ± 0,17	KW=10,94 P=0,004 *
Gİ	1,54 ± 0,19	1,49 ± 0,36	0,24 ± 0,26	KW=31,17 P=0,001 *
CD	2,92 ± 0,40	2,95 ± 0,50	1,55 ± 0,29	KW=30,53 P=0,001 *
DKZİ	1,31 ± 0,49	1,27 ± 0,70	0,02 ± 0,04	KW=32,15 P=0,001 *
Ataşman	3,67 ± 0,89	4,07 ± 1,02	0,00 ± 0,00	KW=32,85 P=0,001 *

* P<0,05

Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi; gruplara ait tedavi sonrası Pİ ÖB değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur (P<0,05). Gruplara ait tedavi sonrası Pİ değerleri ikişerli karşılaştırıldığında; ilaç grubuyla - sağlıklı bireyler, plasebo grubuyla - sağlıklı bireyler arasındaki fark anlamlı bulunurken (P<0,05), plasebo ve ilaç grubu arasında fark bulunamamıştır (P>0,05). Aynı durum Gİ, CD, DKZİ, ve ataşman değerleri için de söz konusudur.

Tedavi öncesi tüm ağıza ait değerlerin gruplar arası karşılaştırması Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6 Gruplara ait tedavi öncesi tüm ağız değerlerinin karşılaştırılması

	İlaç Grubu	Plasebo Grubu	Sağlıklı Grup	Sonuç
Pİ	1,50 ± 0,28	1,48 ± 0,31	0,36 ± 0,17	KW=31,36 P=0,001 *
Gİ	2,17 ± 0,27	2,13 ± 0,12	0,45 ± 0,20	KW=31,17 P=0,001 *
CD	3,28 ± 0,56	3,48 ± 0,71	1,62 ± 0,23	KW=31,27 P=0,001 *
DKZİ	3,01 ± 0,41	2,96 ± 0,35	0,04 ± 0,05	KW=31,44 P=0,001 *
Ataşman	3,62 ± 0,75	4,16 ± 1,00	0,00 ± 0,00	KW=33,16 P=0,001 *

* P<0,05

Çizelge 4.6'da görüldüğü üzere; gruplara ait tedavi öncesi Pİ TA (tüm ağız) değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur (P<0,05). Gruplara ait tedavi sonrası Pİ değerleri ikişerli karşılaştırıldığında; ilaç grubuyla - sağlıklı bireyler, plasebo grubuyla - sağlıklı bireyler arasındaki fark anlamlı bulunurken (P<0,05), plasebo ve ilaç grubu arasında fark bulunamamıştır (P>0,05). Aynı durum Gİ, CD, DKZİ, ve ataşman değerleri için de söz konusudur.

Tedavi sonrası tüm ağıza ait değerlerin gruplar arası karşılaştırması Çizelge 4.7'de verilmiştir.

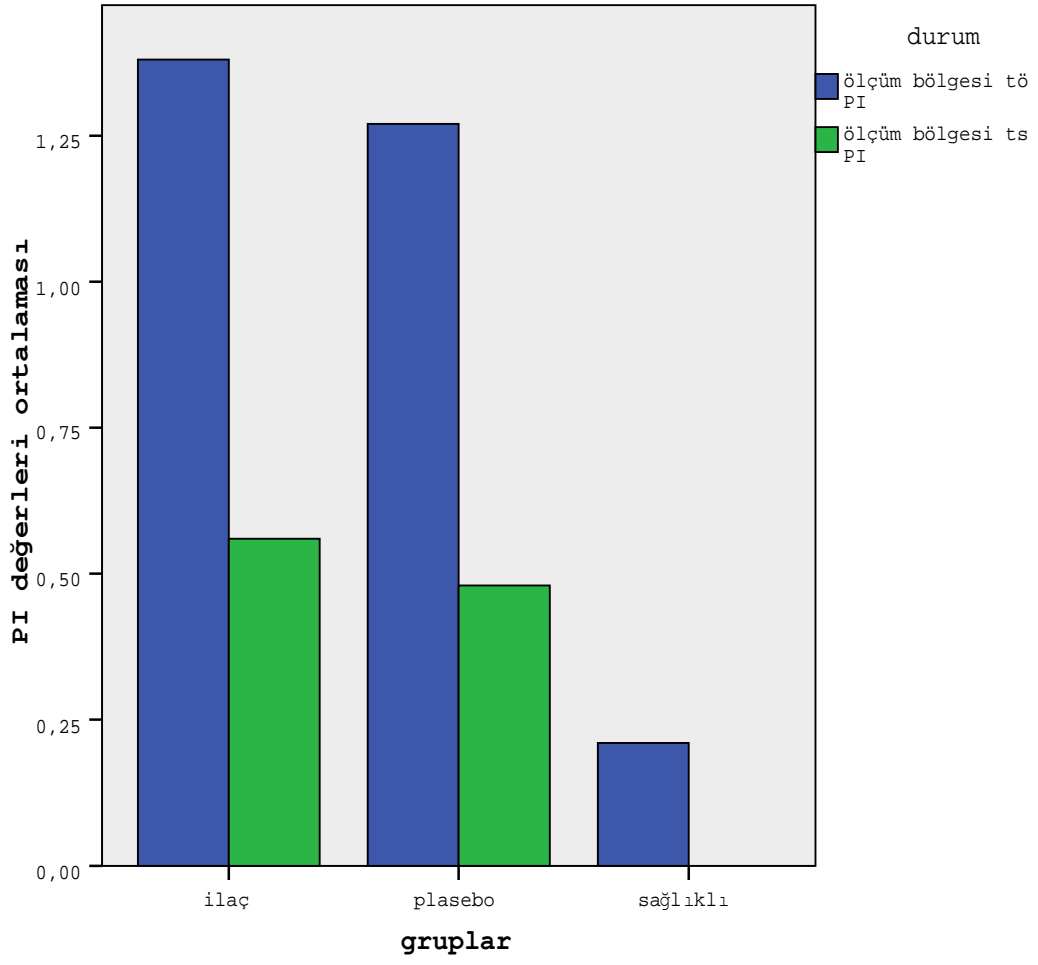
Çizelge 4.7 Gruplara ait tedavi sonrası tüm ağız değerlerinin karşılaştırması

	İlaç Grubu	Plasebo Grubu	Sağlıklı Grup	Sonuç
Pİ	0,81 ± 0,35	0,70 ± 0,37	0,36 ± 0,17	KW=16,33 P=0,001 *
Gİ	1,63 ± 0,16	1,60 ± 0,25	0,45 ± 0,20	KW=31,37 P=0,001 *
CD	2,58 ± 0,43	2,90 ± 0,60	1,62 ± 0,23	KW=30,23 P=0,001 *
DKZİ	1,50 ± 0,51	1,60 ± 0,60	0,04 ± 0,05	KW=31,47 P=0,001 *
Ataşman	3,62 ± 0,75	4,15 ± 0,99	0,00 ± 0,00	KW=33,23 P=0,001 *

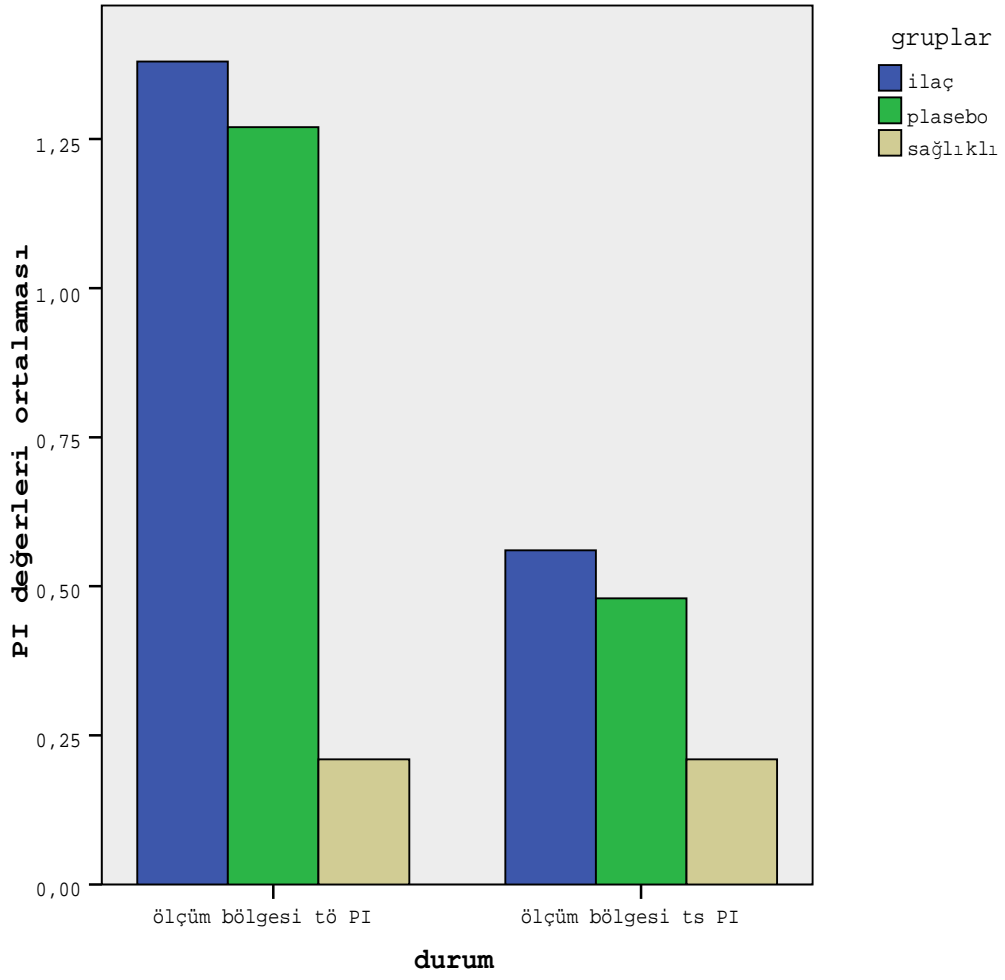
* P<0,05

Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi; gruplara ait tedavi sonrası Pİ TA (tüm ağız) değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Gruplara ait tedavi sonrası Pİ değerleri ikişerli karşılaştırıldığında; ilaç grubuyla - sağlıklı bireyler, plasebo grubuyla - sağlıklı bireyler arasındaki fark anlamlı bulunurken ($P<0,05$), plasebo ve ilaç grubu arasında fark bulunamamıştır ($P>0,05$). Aynı durum Gİ, CD, DKZİ, ve ataşman için de söz konusudur.

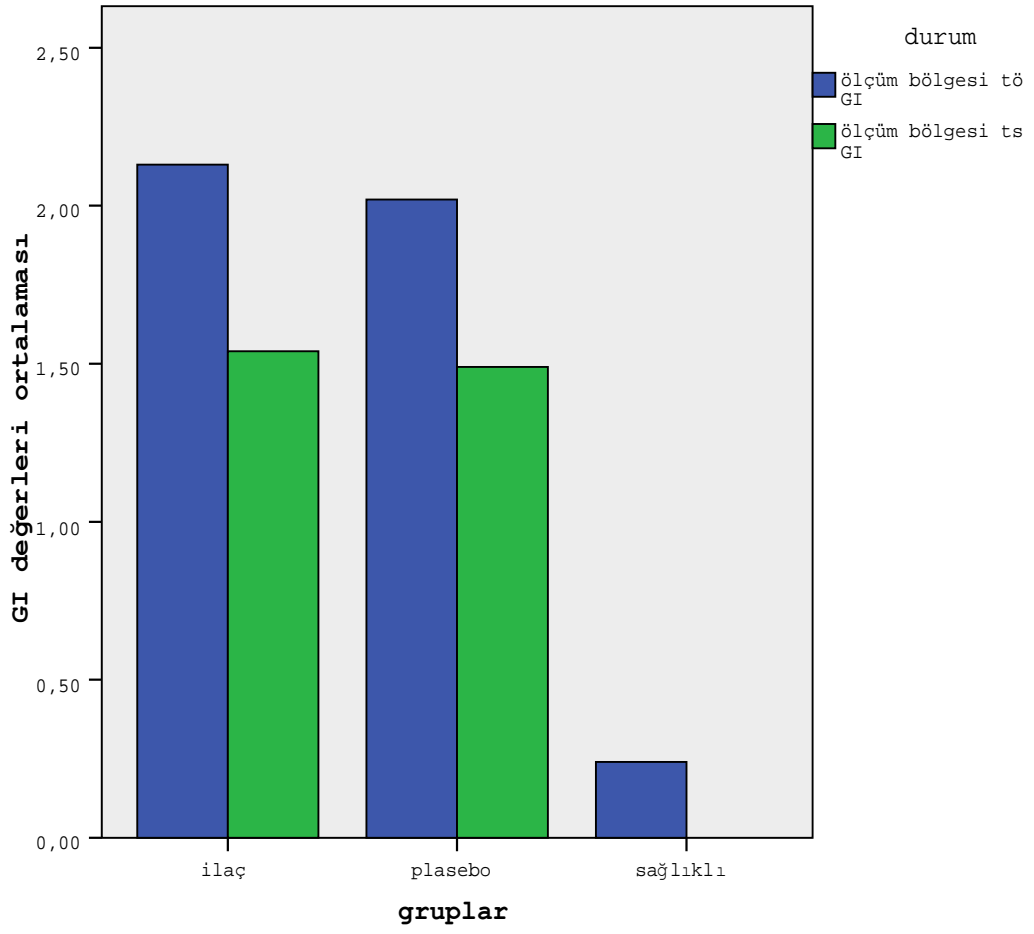
Ölçüm bölgesi ve tüm ağıza ait indeks değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırmaları ile tedavi öncesi ve sonrası durumları, grafiksel olarak da özetlenmiştir. Buna göre ölçüm bölgesine ait verilerin gruplar arası ve grup içi tedavi öncesi – tedavi sonrası karşılaştırmaları şu şekildedir:



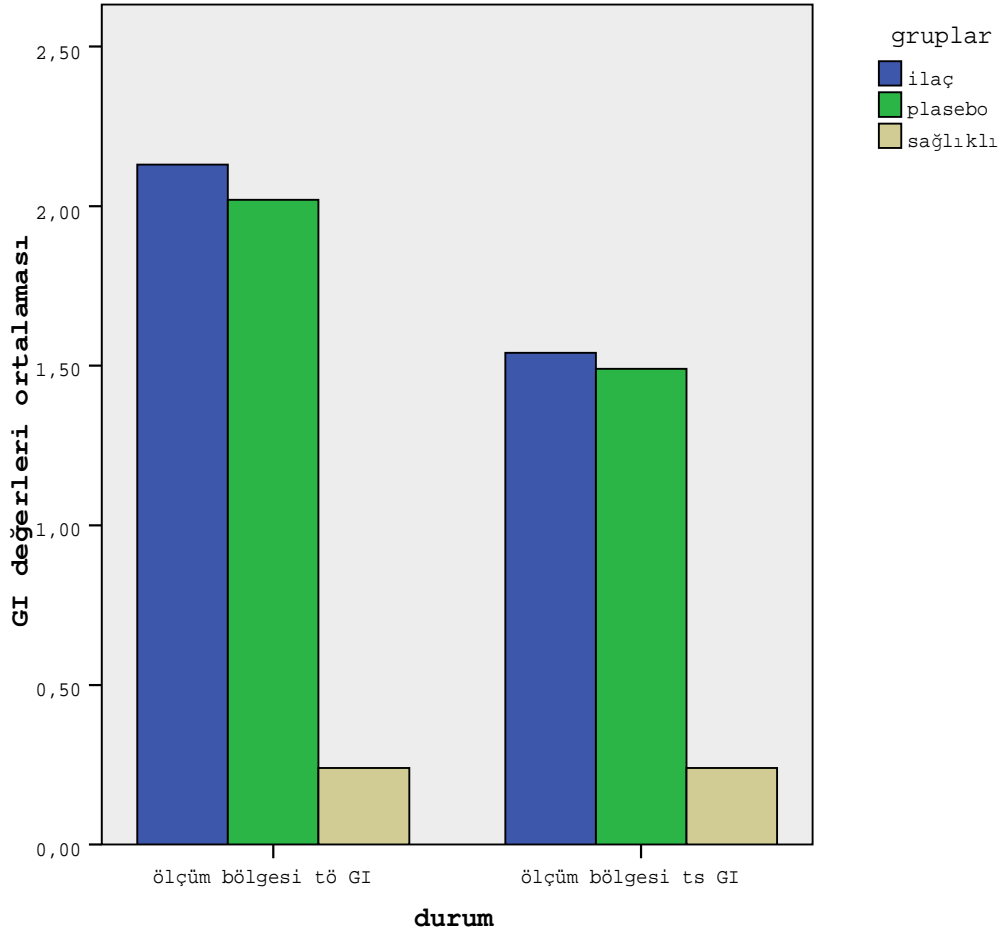
Şekil 4.1 Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi Pİ değerlerinin grup içi karşılaştırması



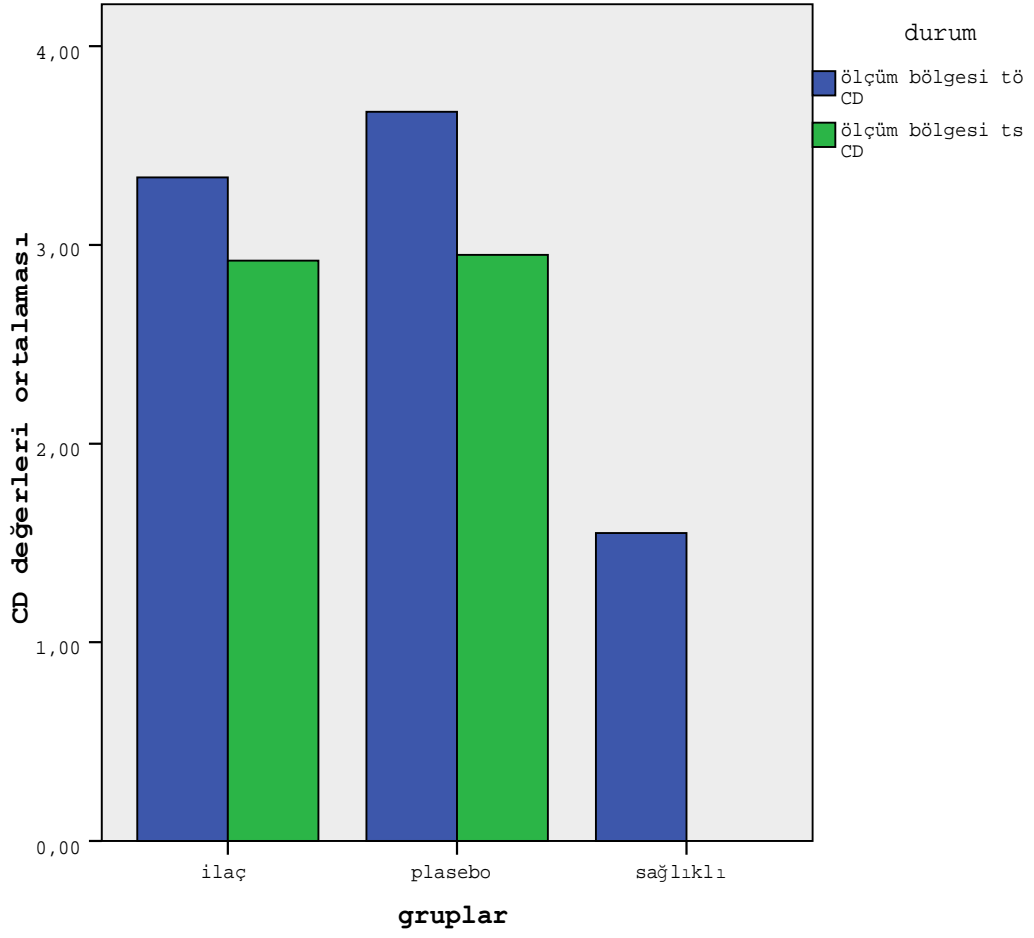
Şekil 4.2 Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi Pİ değerlerinin gruplar arası karşılaştırması



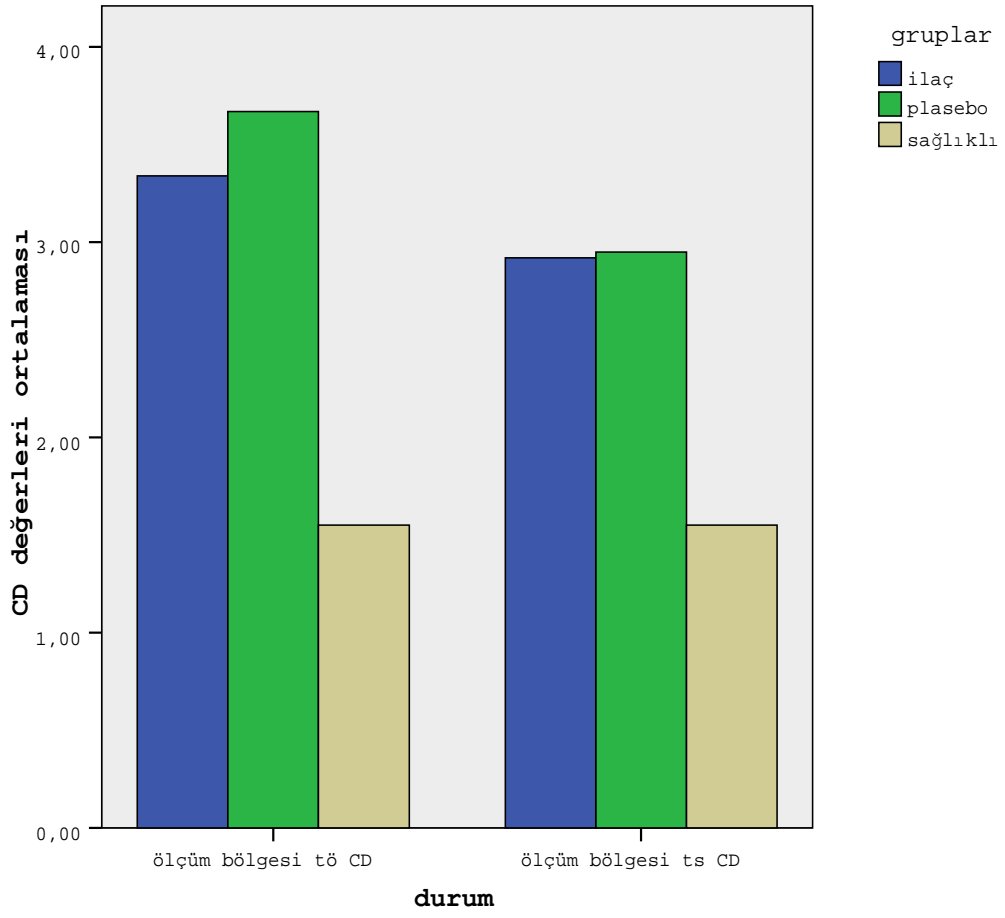
Şekil 4.3 Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi Gİ değerlerinin grup içi karşılaştırması



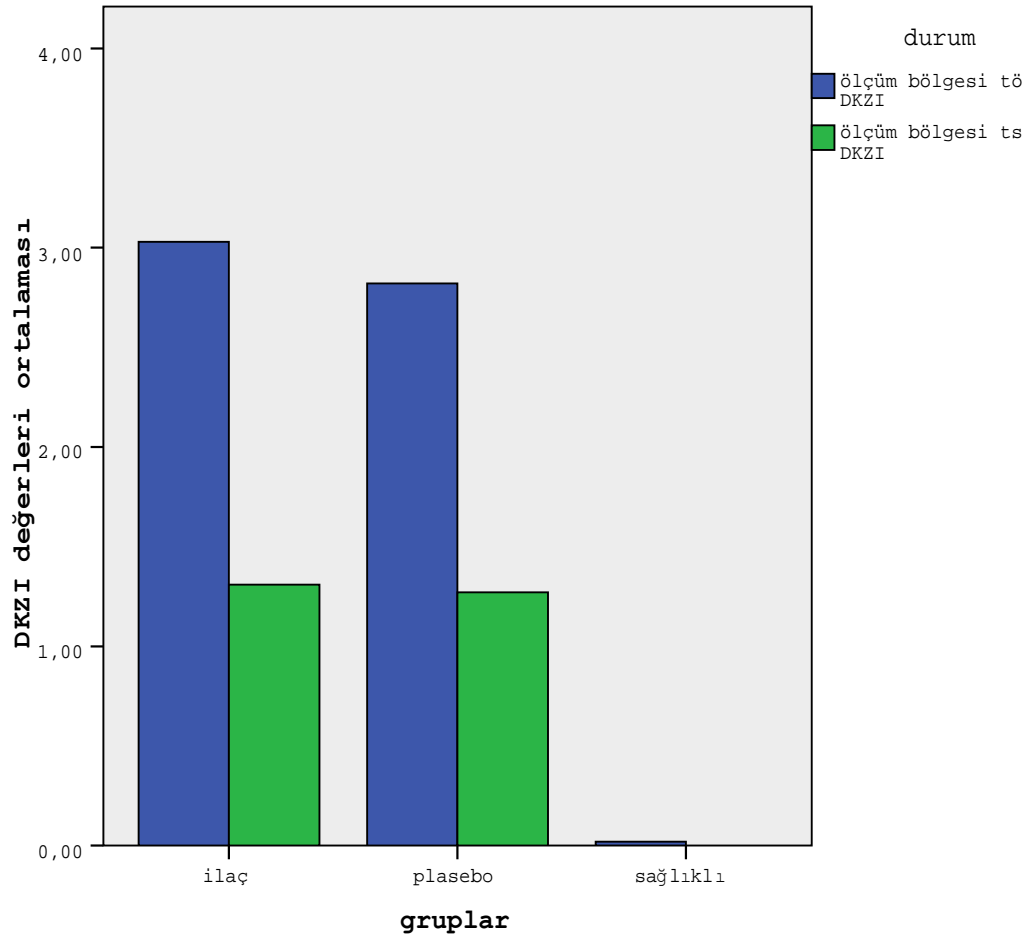
Şekil 4.4 Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi Gİ değerlerinin gruplar arası karşılaştırması



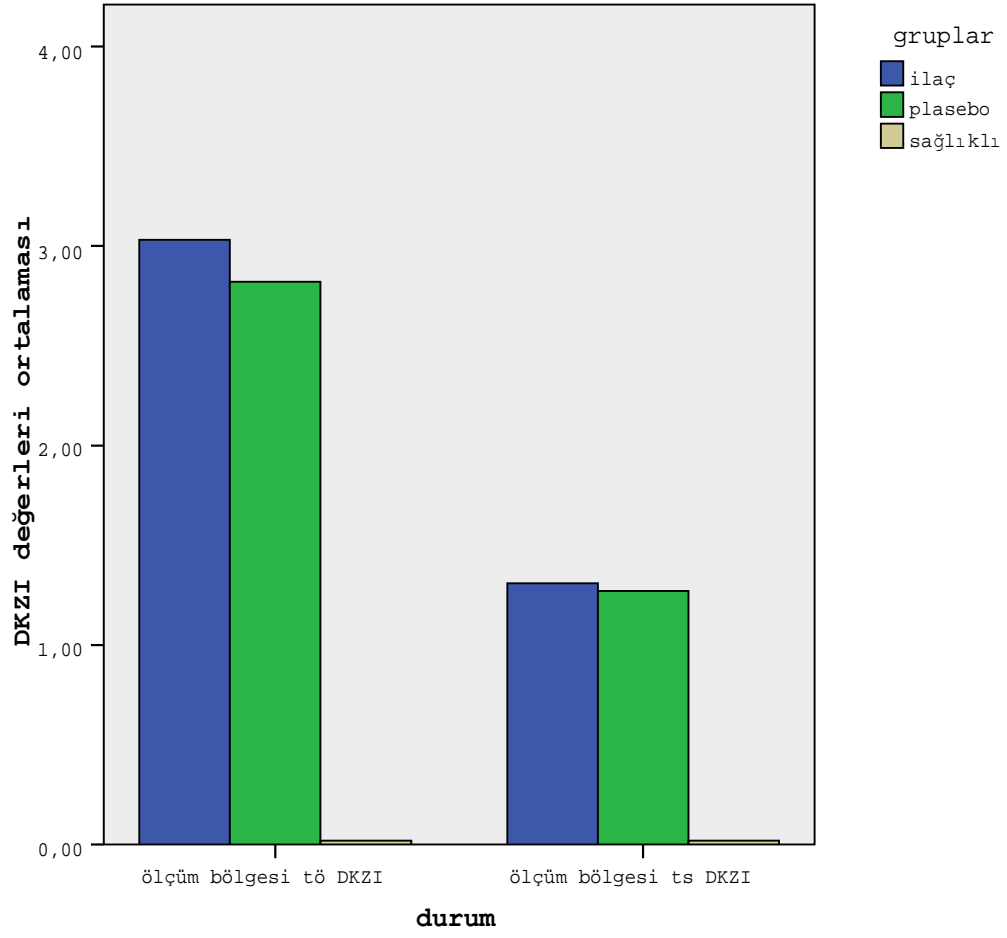
Şekil 4.5 Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi CD değerlerinin grup içi karşılaştırması



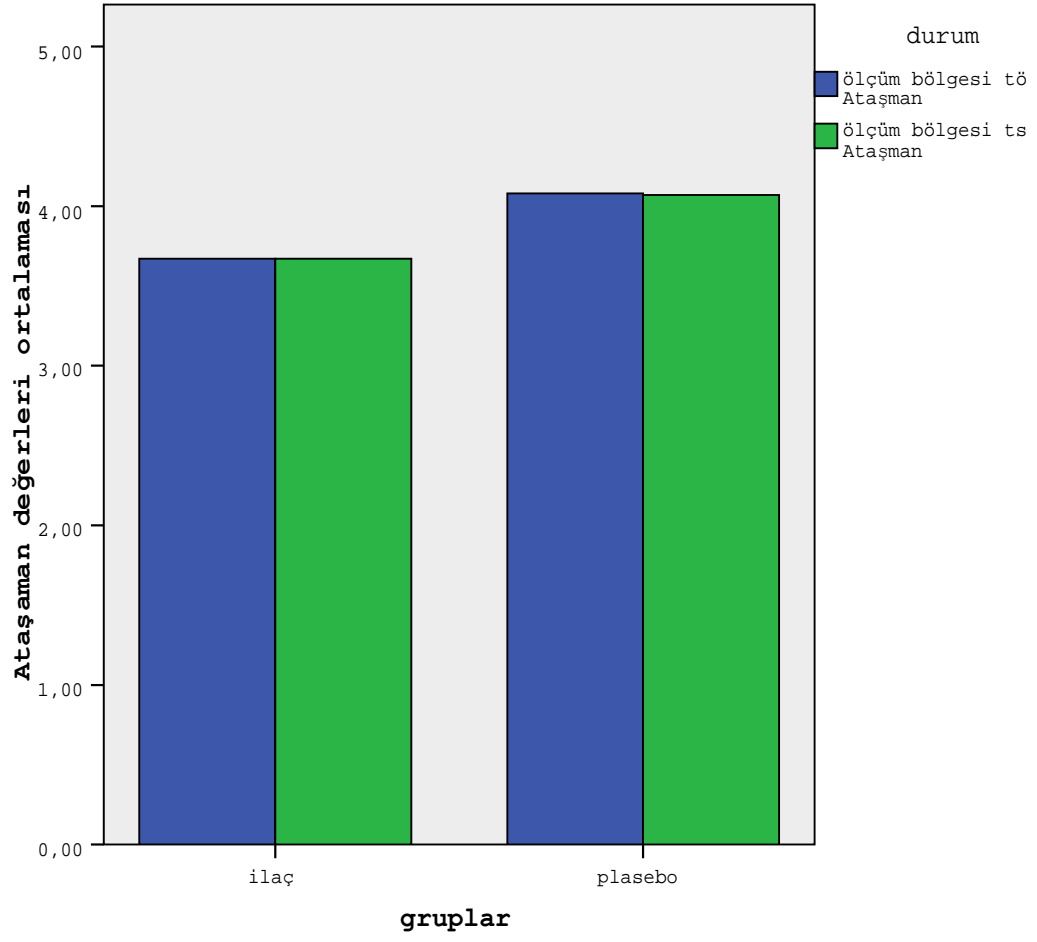
Şekil 4.6 Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi CD değerlerinin gruplar arası karşılaştırması



Şekil 4.7 Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi DKZİ değerlerinin grup içi karşılaştırması

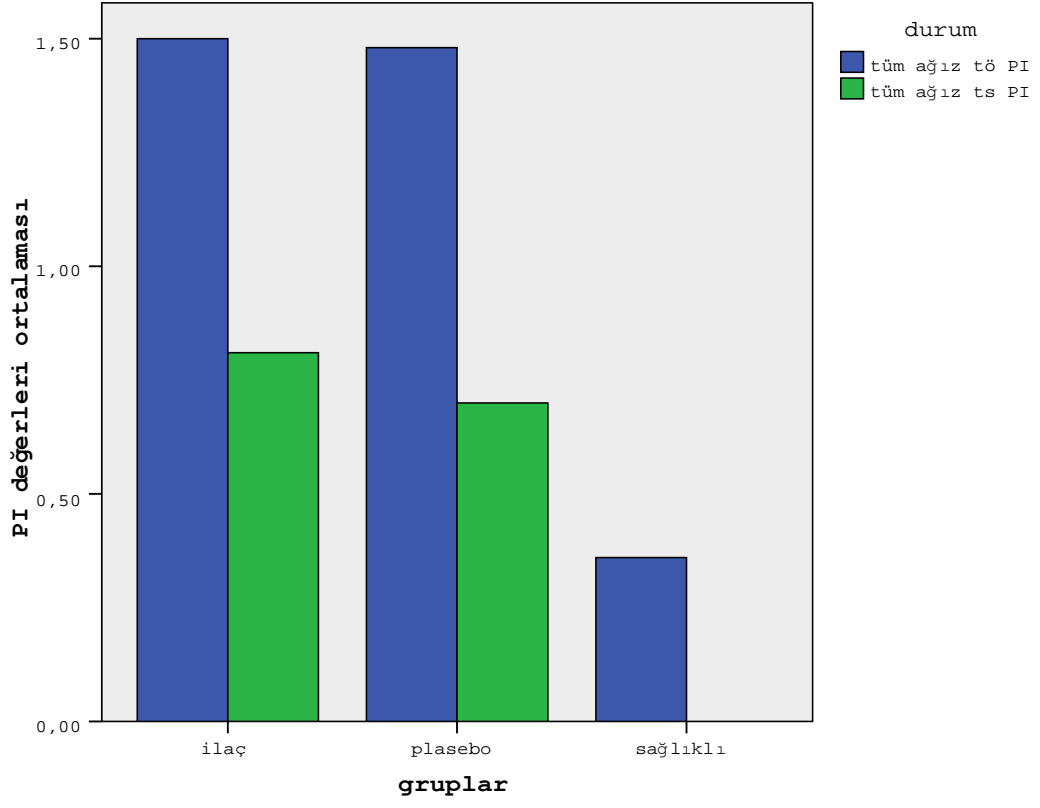


Şekil 4.8 Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi DKZI değerlerinin gruplar arası karşılaştırması

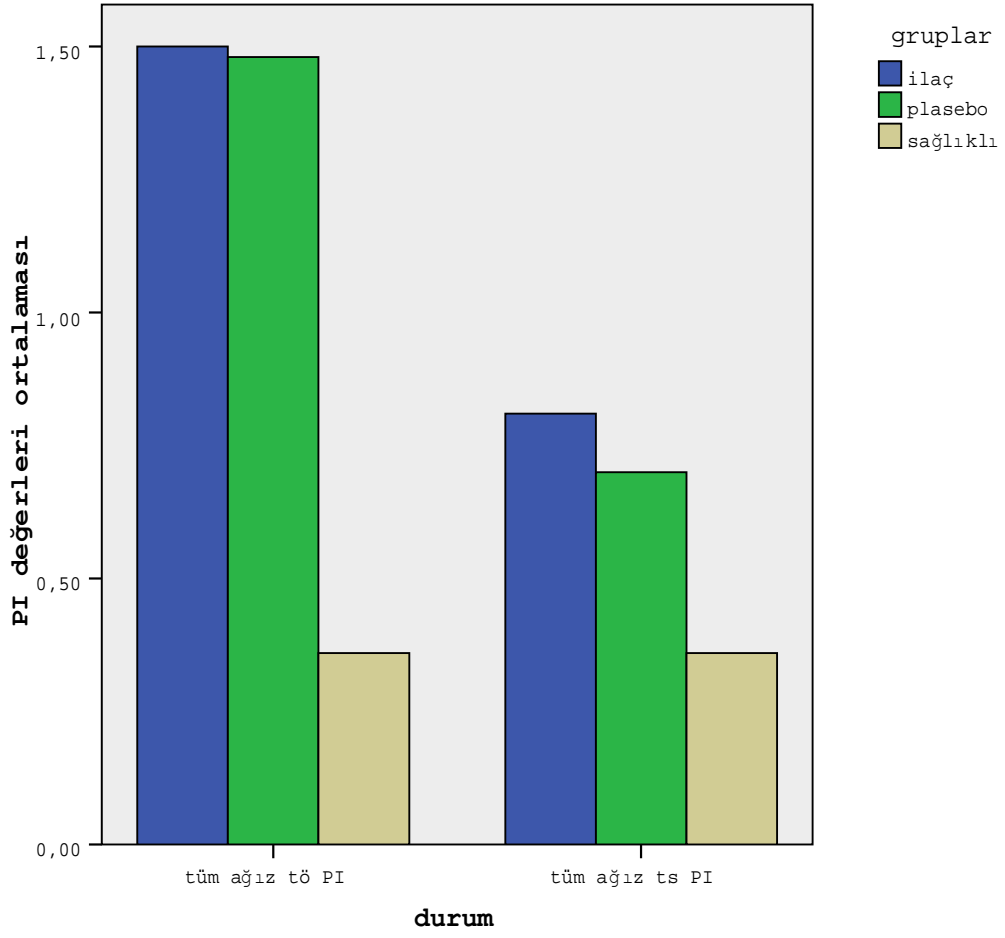


Şekil 4.9 Tedavi öncesi ve sonrası ölçüm bölgesi ataşman değerlerinin grup içi karşılaştırması

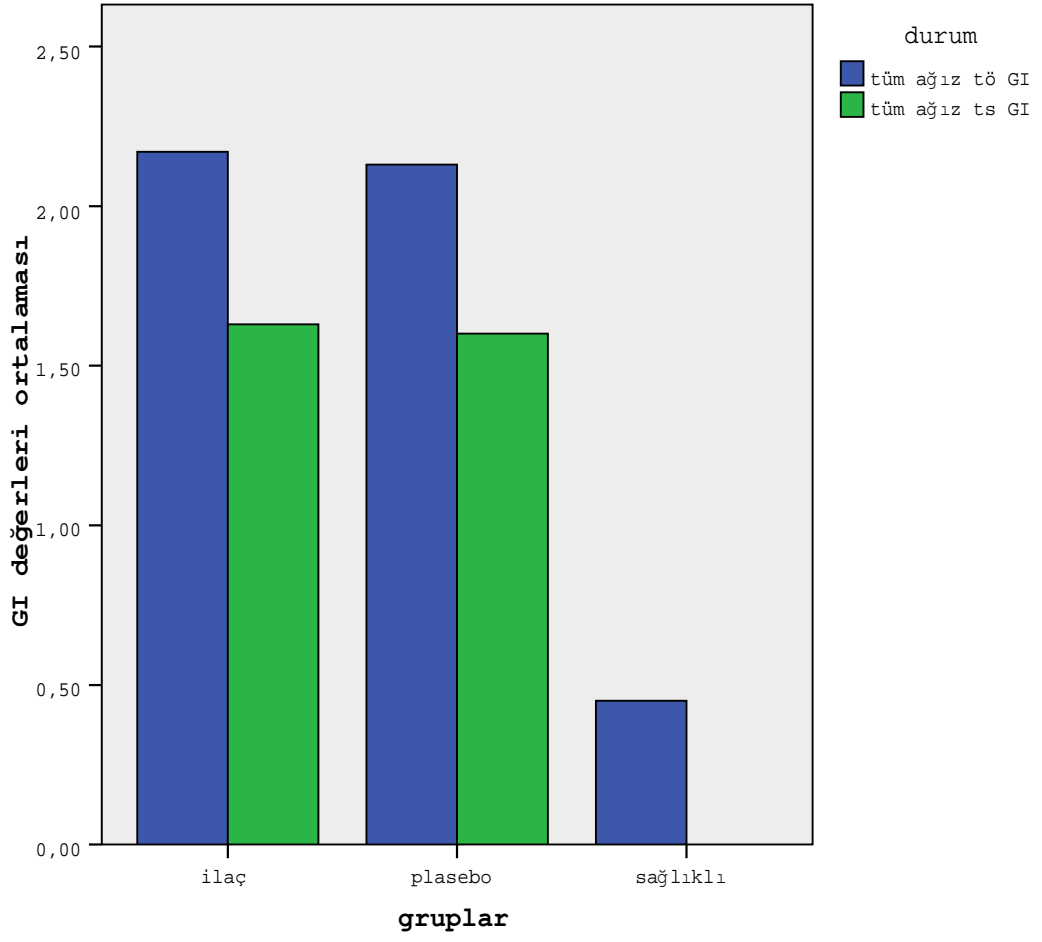
Tüm ağıza ait verilerin gruplar arası ve grup içi tedavi öncesi – tedavi sonrası karşılaştırmaları şu şekildedir:



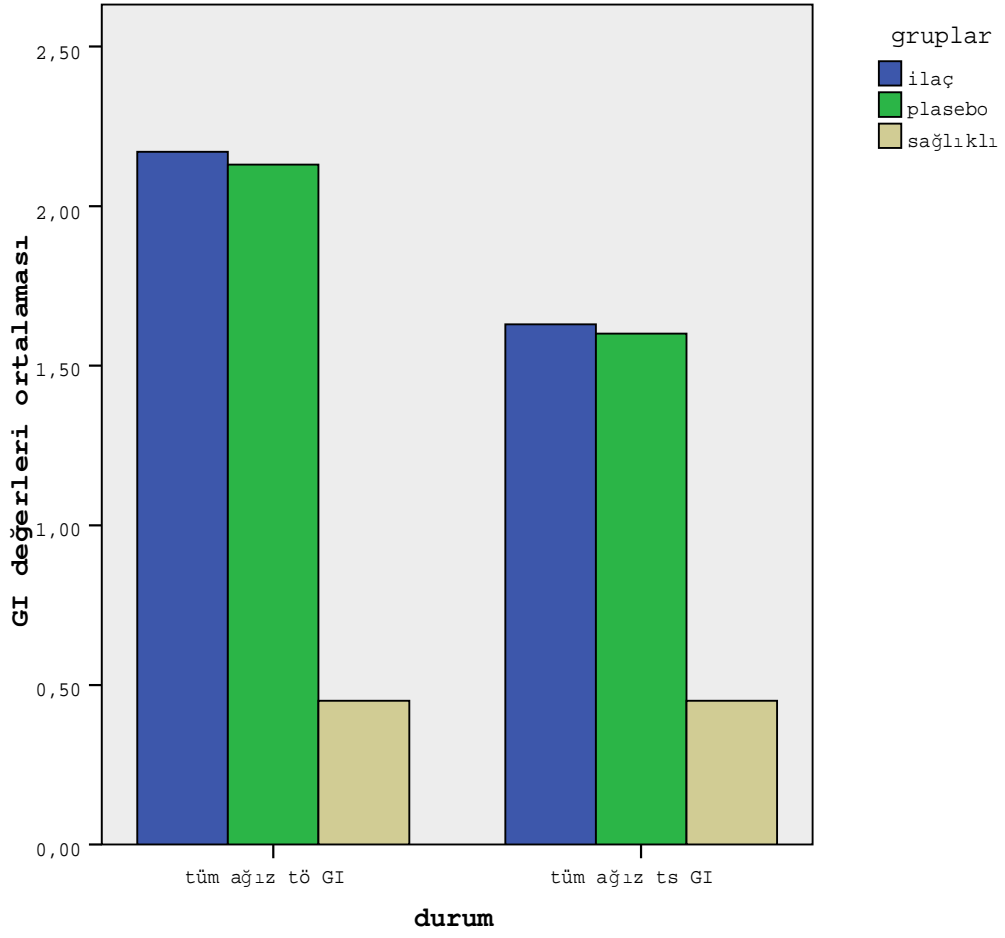
Şekil 4.10 Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız Pİ değerlerinin grup içi karşılaştırması



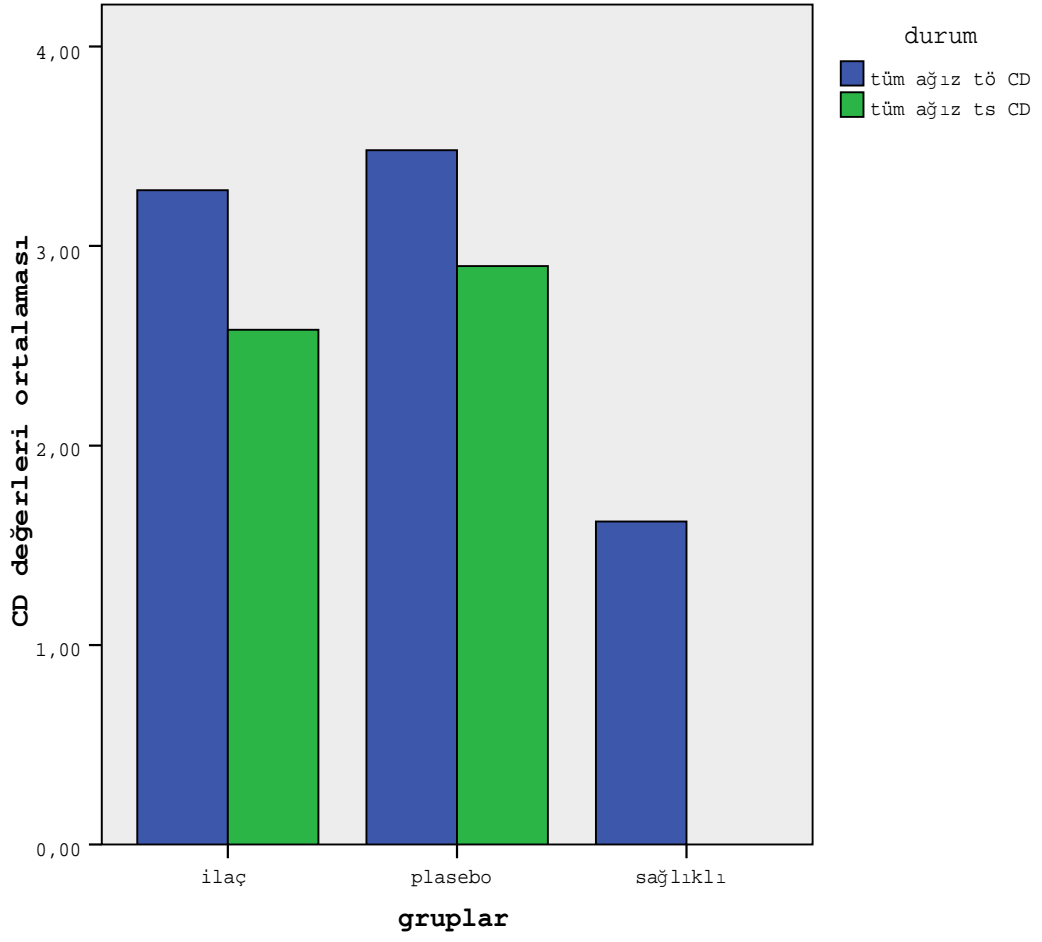
Şekil 4.11 Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız Pİ değerlerinin gruplar arası karşılaştırması



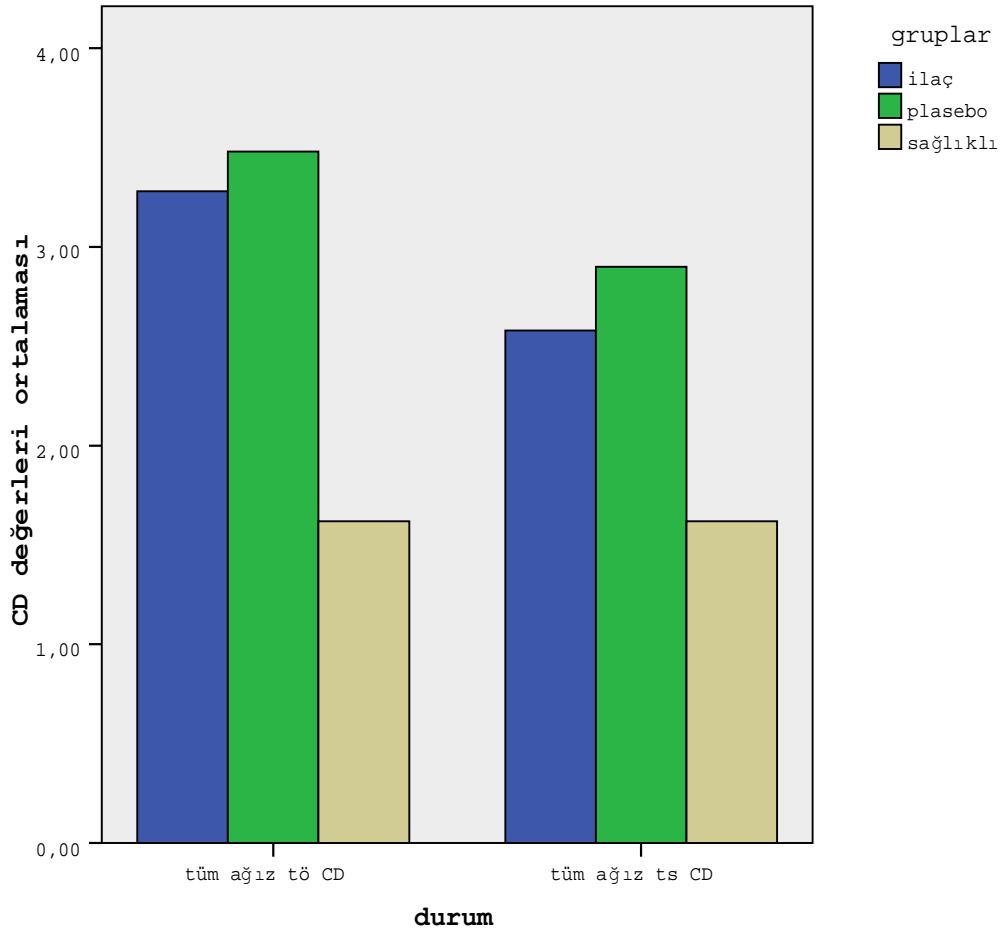
Şekil 4.12 Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız GI değerlerinin grup içi karşılaştırması



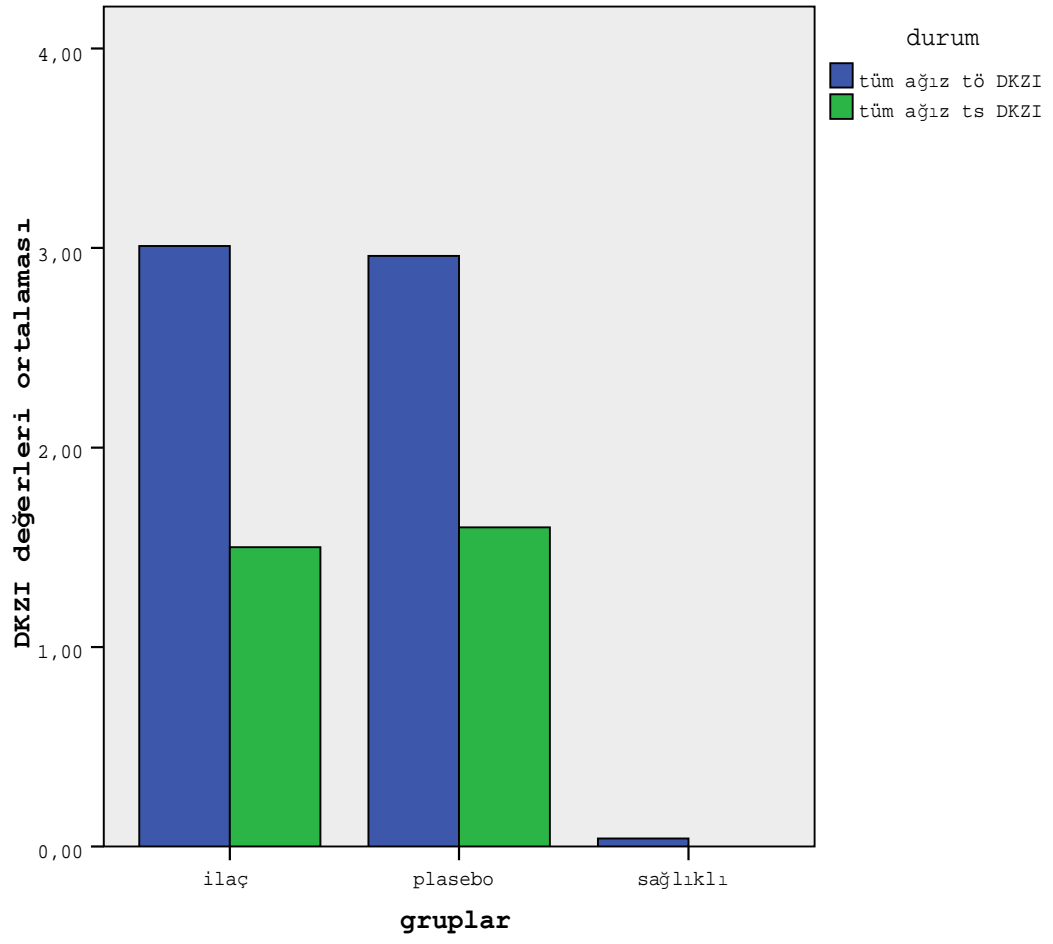
Şekil 4.13 Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız Gİ değerlerinin gruplar arası karşılaştırması



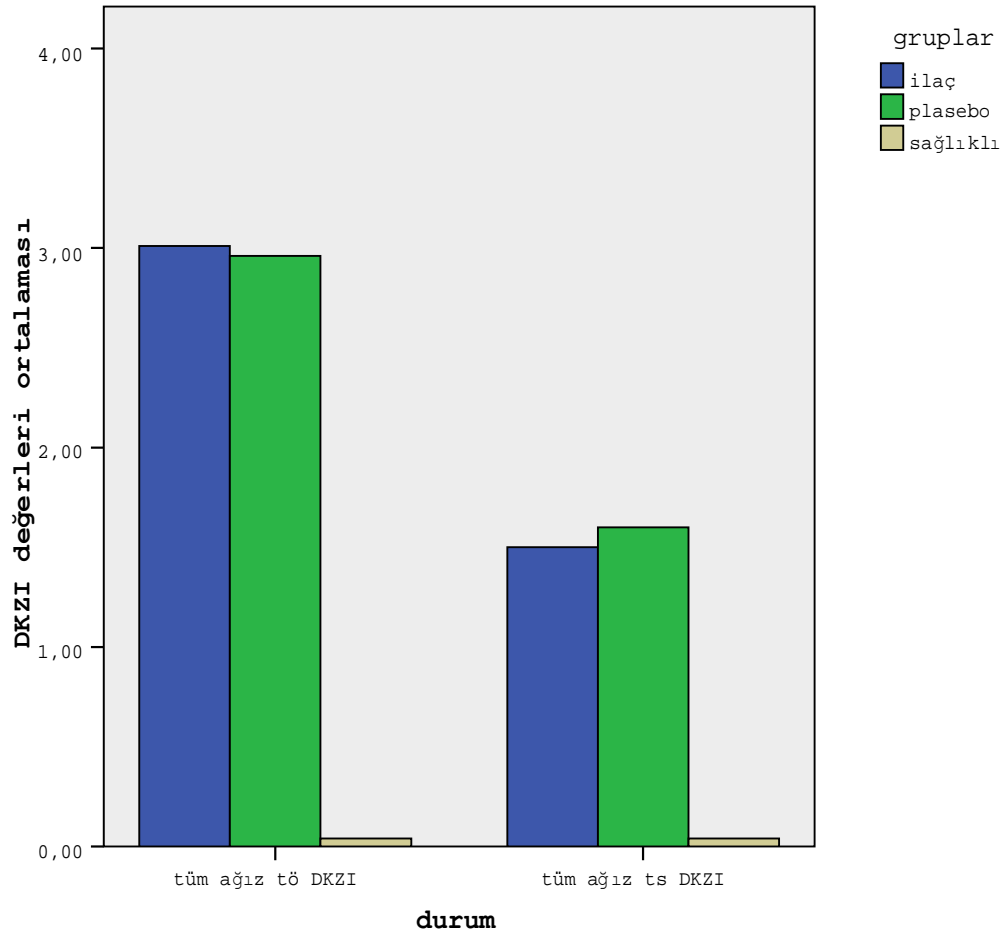
Şekil 4.14 Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız CD değerlerinin grup içi karşılaştırması



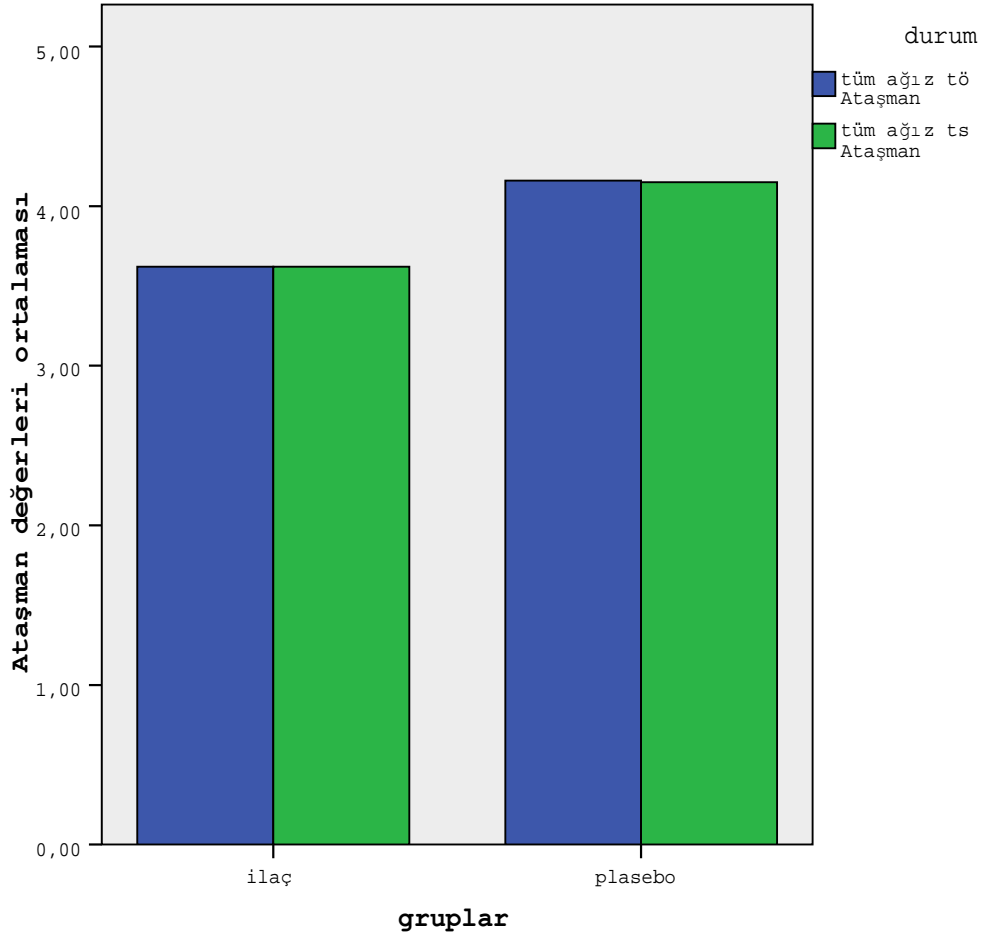
Şekil 4.15 Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız CD değerlerinin gruplar arası karşılaştırması



Şekil 4.16 Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız DKZI değerlerinin grup içi karşılaştırması



Şekil 4.17 Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız DKZI değerlerinin gruplar arası karşılaştırması



Şekil 4.18 Tedavi öncesi ve sonrası tüm ağız ataşman değerlerinin grup içi karşılaştırması

4.2 Laboratuvar Bulguları

İlaç grubuna ait MMP-8 ve TNF- α değerlerinin tedavi öncesi ve tedavi sonrasındaki değişimlerine ait veriler Çizelge 4.8’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.8 İlaç grubu tedavi öncesi ve sonrası MMP-8 ve TNF- α değerleri

	Tedavi Öncesi X \pm S	Tedavi Sonrası X \pm S	Sonuç
TNF- α	4,23 \pm 2,03	4,04 \pm 1,38	P=0,570 P>0,05
MMP-8	3085,64 \pm 348,19	2213,43 \pm 791,85	P=0,001 *

* P<0,05

Çizelge 4.8’de görüldüğü gibi; MMP-8 açısından tedavi öncesi ve sonrası ölçümler arasında tespit edilen düşüş istatistiksel olarak önemli (P<0,05) bulunurken; TNF- α yönünden tedavi sonrası değerlerde düşüş tespit edilmiş olsa dahi farklılık istatistiksel olarak önemsiz (P>0,05) bulunmuştur.

Plasebo grubuna ait MMP-8 ve TNF- α değerlerinin tedavi öncesi ve tedavi sonrasındaki değişimlerine ait veriler Çizelge 4.9’da gösterilmiştir

Çizelge 4.9 Plasebo grubu tedavi öncesi ve sonrası MMP-8 ve TNF- α değerleri

	Tedavi Öncesi X \pm S	Tedavi Sonrası X \pm S	Sonuç
TNF- α	4,07 \pm 1,58	3,84 \pm 2,29	P=0,754 P>0,05
MMP-8	1654,61 \pm 415,86	1548,31 \pm 678,16	P=0,569 P>0,05

Çizelge 4.9’da görüldüğü üzere TNF- α ve MMP-8 yönünden tedavi öncesi ve sonrası ölçümler arasında her iki parametre için de düşüş tespit edilmiş, ancak farklılık istatistiksel olarak önemsiz (P>0,05) bulunmuştur.

Tedavi öncesi MMP-8 ve TNF- α değerlerinin gruplar arası karşılaştırması Çizelge 4.10'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.10 Tedavi öncesi MMP-8 ve TNF- α değerlerinin gruplar arası karşılaştırması

	İlaç Grubu	Plasebo Grubu	Sağlıklı Grup	Sonuç
TNF- α	4,23 \pm 2,03	4,07 \pm 1,58	3,17 \pm 1,97	KW=1,63 P=0,442
MMP-8	3085,64 \pm 348,19	1654,61 \pm 415,86	1206,69 \pm 369,07	KW=33,84 P=0,001 *

* P<0,05

Çizelge 4.10'da görüldüğü üzere gruplara ait tedavi öncesi TNF- α ölçümleri karşılaştırıldığında en yüksek TNF- α değerine ilaç grubunda, en düşük değere de sağlıklı grupta rastlanmış, ancak gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

Gruplara ait tedavi öncesi MMP-8 ölçümleri karşılaştırıldığında ise gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur (P<0,05). Gruplara ait tedavi öncesi MMP-8 değerleri ikiye bölünmüş karşılaştırıldığında; ilaç-plasebo, ilaç-sağlık, plasebo-sağlık grupları arasındaki fark önemli bulunmuştur (P<0,05). İlaç ve plasebo grubu MMP-8 değerleri, sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksektir.

Tedavi sonrası MMP-8 ve TNF- α değerlerinin gruplar arası karşılaştırması Çizelge 4.11'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11 Tedavi sonrası MMP-8 ve TNF- α değerlerinin gruplar arası karşılaştırması

	İlaç Grubu	Plasebo Grubu	Sağlıklı Grup	Sonuç
TNF- α	4,04 \pm 1,38	3,84 \pm 2,29	3,17 \pm 1,97	KW=1,58 P=0,452
MMP-8	2213,43 \pm 791,85	1548,31 \pm 678,16	1206,69 \pm 369,07	KW=14,34 P=0,001 *

* P<0,05

Çizelge 4.11'de görüldüğü üzere gruplara ait tedavi sonrası TNF- α ölçümleri karşılaştırıldığında en yüksek TNF- α değerine ilaç grubunda, en düşük değere de sağlıklı grupta rastlanmış, ancak gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

Gruplara ait tedavi sonrası MMP-8 ölçümleri karşılaştırıldığında ise gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Gruplara ait tedavi sonrası MMP-8 değerleri ikişerli karşılaştırıldığında; ilaç-plasebo, ilaç-sağlık, plasebo-sağlık grupları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0,05$). İlaç ve plasebo grubu MMP-8 değerleri, sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksektir.

MMP-8 ve TNF- α 'nın klinik parametrelerle ilişkisi Çizelge 4.12'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.12 MMP-8 ve TNF- α 'nın klinik parametrelerle ilişkisi

	MMP-8		TNF- α	
	r	p	r	p
Pİ (Ölçüm Bölgesi)	0,31	0,034 *	0,21	0,168
Pİ (Tüm Ağız)	0,23	0,123	0,11	0,473
Gİ (Ölçüm Bölgesi)	0,38	0,009 *	0,17	0,261
Gİ (Tüm Ağız)	0,43	0,002 *	0,12	0,422
CD (Ölçüm Bölgesi)	0,25	0,09	0,24	0,107
CD (Tüm Ağız)	0,13	0,391	0,14	0,352
DKZİ (Ölçüm Bölgesi)	0,31	0,037 *	0,07	0,609
DKZİ (Tüm Ağız)	0,38	0,009 *	0,05	0,704
Ataşman (Ölçüm Bölgesi)	0,32	0,027 *	0,16	0,272
Ataşman (Tüm Ağız)	0,31	0,035 *	0,12	0,418

* $P<0,05$

MMP-8 ile Pİ ÖB, Gİ ÖB, Gİ TA, DKZİ ÖB, DKZİ TA, Ataşman ÖB ve Ataşman TA değerleri arasında aynı yönlü ilişki katsayıları bulunmuştur (korelasyonlar). Bulunan bu korelasyonlar istatistiksel olarak önemli olmasına rağmen, miktar olarak bir ilişkiyi gösterme açısından önemsiz değerlerdir.

TNF- α ile tüm parametreler arasında bulunan ilişki katsayıları istatistiksel olarak önemsizdir. Ayrıca TNF- α ile MMP-8 arasında da; $r = 0,18$ 'lik bir ilişki katsayısı bulunmuştur ve bu ilişki katsayısı istatistiksel açıdan önemsizdir.

TARTIŞMA

Periodontal hastalıklar için ana etyolojik faktör mikrobiyal dental plak olmasına rağmen, periodontal dokularda yıkıma yol açan etken; mikrobiyal dental plaktaki patojen bakteriler ve konak doku savunma mekanizması arasındaki karmaşık etkileşimdir. Bakterilerin direkt patolojik etkilerine ilaveten, periodontal dokulardaki yıkım büyük ölçüde bakteri konak etkileşiminin neden olduğu indirekt mekanizmalar yoluyla gerçekleşir. Günümüzde periodontal hastalıkların patogenezinde rol oynayan indirekt mekanizmaların anlaşılmasına yönelik çalışmalar önem kazanmıştır [179]. Sondlama derinliği, ataşman seviyesi, sondlamada kanama, plak indeksi, alveoler kemik kaybının radyografik ölçümü gibi klinik parametreler, periodontal hastalığın şiddeti hakkında bilgi sağlarken, hastalık aktivitesinin ölçülmesinde kullanılamazlar [180]. Bu nedenle; periodontal tanıda sert doku kaybının henüz ortaya çıkmadığı durumlarda ya da var olan kaybın zaman içindeki değişiminin tam izlenemediği durumlarda, laboratuvar metodları ile konak doku cevabının analizi yapılarak, durumun tespit edilmeye çalışılması düşüncesi ortaya çıkmıştır [57]. Bu düşünce DOS gibi oral biyolojik sıvılarda, periodontal hastalıkların biyokimyasal ve immünolojik belirtilerinin araştırılması sonucunu doğurmuştur.

Periodontal hastalıklarda konağa bağlı doku yıkımının gerçekleşmesi, lokal doku yıkımına yol açan konak hücrelerinin ve humoral faktörlerin uyarılarak aktive olması sonucu meydana gelir. Aktive olan hücreler tarafından çeşitli enzim, sitokin ve araşidonik asit metabolitleri gibi, doku yıkım potansiyeline sahip maddeler ortama salınır. Siklooksijenaz ve lipoksijenaz yolları üzerinden metabolize olan araşidonik asitin son ürünleri; prostaglandinler, tromboksanlar ve lökotrienlerdir. Bu moleküller, temel enflamatuvar hücre cevaplarını başlatabilme ve düzenleme yeteneğine sahiptirler ve kemik rezorpsiyonuna yol açabilirler [98,150,161].

NSAİ'ler tüm dünyada analjezik, antipiretik ve antienflamatuvar etkilerinden dolayı sıklıkla kullanılan ilaçlardandır. Klinik olarak, birçok enflamatuvar, dejeneratif hastalıkta ve ağrılı durumlarda kullanılmaktadır. Antienflamatuvar etkilerini siklooksijenaz enzim inhibisyonu ile araşidonik asit metabolitlerinin oluşumunu engelleyerek göstermekte, ayrıca PMNL'ler tarafından salınan lizozomal enzimleri inhibe etmektedirler [42].

Bu özellikleri nedeniyle NSAİ'lerin periodontal hastalıklar üzerine etkili olabileceği düşünülmüştür. İnsan periodontal hastalıkları üzerinde NSAİ'lerin etkisini değerlendiren ilk gözlemler, kronik enflamasyon ve immünolojik bozukluklar için ilaç kullanan hastalar üzerinde yapılan kısa süreli çalışmalardan elde edilmiştir. Sjöström ve ark. [181] NSAİ kullanan romatoid artritli bireylerde periodontal hastalık görülme sıklığını araştırmışlar ve ilaç kullanmayan kontrol grubuna kıyasla, periodontal hastalık oranını daha düşük bulmuşlardır. Ancak 9 yıl boyunca NSAİ kullanan hastalarda, ilacın klinik parametreler üzerine etkili olmadığı saptanmıştır [150]. Takip eden yıllarda NSAİ'lerin periodontal hastalıklar üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar ve hayvan deneyleri yapılmıştır. Williams ve ark. [156] kronik periodontitisli *Beagle* köpeklerde, NSAİ'lerin kemik yıkımını azalttığını ve araziidonik asit metabolitlerinin periodontitiste önemli bir etmen olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Offenbacher ve ark. [182] *Beagle* köpeklerde, Abramson ve ark. [183] insanlarda, siklooksijenaz metabolitlerinden PGE₂ ve tromboksan B₂'nin DOS seviyelerinde ve buna bağlı olarak periodontal kemik kaybında azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Yine flurbiprofen etken maddeli NSAİ'lerin kemik kaybını azaltabileceği bazı çalışmalarda gösterilmiştir [154,157].

TNF- α , makrofajlar ve monositler tarafından üretilen ve kaşektin olarak da bilinen bir polipeptid sitokindir. TNF- α , çeşitli hücre populasyonları üzerinde bir grup enflamatuvar ve immün düzenleyici etki gösterir [90]. Periodonsiyumda, monositler, makrofajlar, polimorfonükleer lökositler, fibroblastlar (gingival ve periodontal ligament), epitelyal hücreler, endotelyal hücreler, osteoblastlar [99] gibi birçok kaynaktan üretilen TNF- α , dişeti fibroblastlarını da içerecek şekilde fibroblastları uyararak periodontal hastalıklarda doku yıkımından sorumlu bir enzim olan kollajenaz üretimini ve osteoklastları aktive ederek kemik rezorpsiyonunu stimüle eder [99]. TNF- α monositleri aktif hale getirir, platelet aktive edici faktörün, IL-1 β 'nin ve prostaglandin üretiminin artırılmasını tetikler [100]. TNF indüksiyonu, kemotaktik sitokinler olarak rol oynayan kemokinler ve prostoglandinleri üreten siklooksijenazlar gibi sekonder medyatörlerin üretimini uyarır [96,101]. İmmün cevapta multipotent bir düzenleyici olarak rol oynar. İşte tüm bu özellikleri nedeniyle birçok araştırmaya konu olmuştur.

Periodontal hastalık aktivitesi ile ilgili çalışmalarda TNF- α 'nın inaktif bölgelerin aktifleşmesini başlatıcı bir faktör olabileceğini bildiren ve periodontal hastalığın aktif fazının tanımlanmasında kullanılabileceğini öneren araştırmalar vardır [97,184,185].

MMP'ler periodontal hastalıkta patojen mikroorganizmalara karşı gelişen konak cevabı sırasında ortaya çıkan ve kollajen yapının yıkımından sorumlu proteinazlardır.

Bu proteinazlardan MMP-8, KP'de önemli rol oynayan, iltihaplı dişeti, DOS ve tükürükte en fazla bulunan ve periodontal dokulardaki kollajen yapının yıkımıyla direkt olarak ilişkilendirilen ana kollajenazdır [125,126,130,141]. Yapılan çalışmalarda enzimin aktif formu, aktif periodontal yıkım ile ilişkilendirilmiş ve uygulanan periodontal tedaviler sırasında seviye ve aktivitelerinin baskılandığı tespit edilmiştir [126,135,138]. İltihaplı dişetinde, kollajenaz-2 veya MMP-8 adıyla bilinen MMP tipine daha çok rastlanmaktadır [129,130].

Bu verilere dayanarak çalışmamızda MMP-8 ve TNF- α 'nın kronik periodontitisteki rolünü, ayrıca başlangıç tedavisine ek olarak verilen tenoxicam etken maddeli NSAİ'nin 10 gün süreyle kullanımının tedaviye bir katkı sağlayıp sağlamadığını, MMP-8 ve TNF- α 'nın DOS seviyeleri ve klinik parametreler üzerinde yaptığımız değerlendirmeler yoluyla tespit etmeye çalıştık. Bu amaçla; Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesine farklı nedenlerle başvuran, aradığımız kriterlere uygun 48 birey, onayları alınarak çalışmaya dahil edildi. Bireylerden 16'sı başlangıç periodontal tedavi eşliğinde NSAİ (Tenoxicam) kullanan kronik periodontitisli, 16'sı başlangıç periodontal tedavi eşliğinde plasebo kullanan kronik periodontitisli ve 16'sı periodontal sağlıklı birey olmak üzere 3 eşit gruba ayrıldı. NSAİ ve plasebo kullanan gruplar deney grubu, periodontal sağlıklı grup ise kontrol grubu olarak belirlendi. NSAİ (tenoxicam) ve plasebo deney gruplarındaki bireylere, tedavinin başlangıcından itibaren 10 gün süreyle 1 x 20 mg şeklinde verildi. Hastaların seçiminde önceden belirlenen kriterlere dikkatle uyuldu. Bu şekilde DOS'ta tespit edilen değerlerin diğer faktörlerden etkilenmesi olasılığı ortadan kaldırılmaya çalışıldı. Araştırma kapsamına alınan hastaların ilk önce klinik ve radyografik değerlendirmeleri yapıldı. Her bireyin periodontal durumunu saptamak amacıyla, çalışma başlangıcında tüm bireylerde Gingival İndeks (Gİ), Plak İndeksi (Pİ), Sondlama Cep Derinliği (SCD), Dişeti Kanama Zamani İndeksi (DKZİ) ve Ataşman Seviyesi (AS) ölçümleri tek bir araştırmacı tarafından gerçekleştirildi. Tüm ölçümler tedavi öncesi ve tedaviden sonraki onuncu günde yapılarak kaydedildi. DOS örnekleri ise; çalışma grubundaki her hastadan, kontaminasyon riskinin en aza indirilebilmesi amacıyla, üst çene anterior bölgede 4-6 mm'lik SCD ve Gİ >1 olan 4 bölgeden toplandı. DOS örnekleri, tüm bireylerden plak indeksi (Pİ) haricinde klinik ölçümler yapılmadan, tedavi öncesi ve tedavileri takip eden 10. günde toplandı. DOS elde edilecek dişler pamuk tamponlarla tükürükten tamamen izole edildi. Diş yüzeyleri hava spreyi ile hafifçe kurutuldu. Örneklemeye öncesinde, DOS hacmine etki edebilecek olan, diş yüzeyindeki plak ve yumuşak eklentiler, dişetine

dokunulmadan, pamuk peletler yardımıyla dikkatli bir şekilde bölgeden uzaklaştırıldı. Tüm DOS örnekleme işlemlerinin belli saatler arasında gerçekleştirilmesine çalışıldı.

DOS, toplandığı periodontal bölgedeki dokuların sağlık durumları ile hastalık ve iyileşme sürecindeki değişiklikleri yansıtması açısından önemli bir hücre dışı sıvıdır. İnvaziv olmayan bir yöntemle, hastanın kolay tolere edebileceği bir şekilde toplanır ve ilgili bölgedeki periodontal dokularla yakından ilişkili dinamik bir yapıya sahiptir. Sonuç olarak aktif periodontal yıkımın indikatörlerini belirlemek amacıyla yapılan birçok çalışma DOS içeriğinin analiziyle uğraşmıştır. DOS toplanması için çeşitli metotlar uygulanmıştır. Ancak emici filtre kağıt şeritler ile DOS toplama yöntemi, çabuk ve kolay uygulanabilirliği, az travmatik ve bölgeye özel olması gibi avantajları nedeniyle günümüzde en sık tercih edilen yöntemdir [143,186,187,188]. Biz de çalışmamızda bu yöntemi tercih ettik.

Geleneksel olarak, biyolojik sıvılarda birim hesaplaması konsantrasyon cinsinden yapılmaktayken; Lamster ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmalarda [189,190] bu hesaplamaların toplam miktar esas alınarak ve sıvının toplama süresi standardize edilerek yapılması gerektiği savunulmuştur. Toplanan DOS seviyelerinin toplam miktarda kabul edilmesinin avantajı, DOS hacminin hesaplanması sırasında meydana gelebilecek hataların önlenilmesidir. DOS hacimleri genellikle çok düşük miktarlarda, mikrolitre (μ l) cinsinden toplanabildiğinden, meydana gelebilecek olan minimal hatalarda bile, örneğin buharlaşma olması halinde, konsantrasyon miktarlarında ciddi farklılıklar gözlemlenmektedir [189,190]. Bu durumdan dolayı birçok araştırmacı toplanan DOS seviyelerini konsantrasyon değil, toplam miktarda vermeyi tercih etmiştir [191-193]. Bu nedenle, biz de çalışmamızda bu yolu tercih ettik.

DOS ile yapılan çalışmalarda toplama süresi de önemli bir konudur. Uzun süre cep içerisinde bekletilen kağıt şeritlerin yarattığı irritasyon ve beraberinde damar geçirgenliğinin artması sonucu, sıvı akışının arttığı ve 2 dakikayı aşan toplama süresi sonucu elde edilen sıvının plazma bileşenleri tarafından seyreltildiği belirtilmektedir [194]. Çalışmamızda toplama süresi; standardizasyonu sağlamak, kağıt şeridin bölgede irritasyona neden olarak kanamaya ya da DOS miktarında değişikliğe neden olmasını engellemek amacıyla, birçok DOS çalışmasında olduğu gibi 30 sn. olarak belirlenmiştir [97,195]. Ayrıca yine benzer nedenler dolayısıyla, kağıt şeritler cep içine Rudin ve ark.'nın [86] yöntemi ile 1 mm kadar yerleştirilmiş ve tükürük kontaminasyonunu engellemek amacıyla örnekler üst anterior bölgeden toplanmıştır.

Çalışmamızda tüm klinik indeksler (Pİ, Gİ, SCD, AS, DKZİ) ve DOS örnekleri, deney gruplarında tedaviye başlamadan önce ve tedavi sonrası 10. günde olmak üzere iki kez, kontrol grubunda ise bir kez alınmıştır. Çalışmada hem kullanılan NSAİ'nin uzun süreli kullanımına bağlı olası yan etkilerden kaçınmak, hem de geç yara iyileşmesinin klinik parametreler ve DOS içeriği üzerindeki etkilerinden korunmak amacıyla 10 günlük bir çalışma süresi belirlenmiştir. Bu sayede; kullanılan ilacın, klinik parametreler ve DOS üzerindeki etkinliğinin daha net bir şekilde değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Çalışmamızda ölçüm bölgesine ait indeks değerleri ile tüm ağıza ait indeks değerleri ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Buna göre tedavi öncesinde; her iki deney grubu arasında gerek ölçüm bölgesi gerekse tüm ağız Pİ değerleri açısından istatistiksel bir farklılık tespit edilemezken; her iki grubun da Pİ değerleri, sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aynı durum tedavi sonrası için de söz konusudur. Mikrobiyal dental plak, kronik periodontitiste en önemli etken olarak gösterilmektedir [43-45,47]. Dolayısıyla deney grubundaki kronik periodontitis hastalarında Pİ değerlerinin yüksek bulunmuş olması şaşırtıcı değildir. Tedavi sonrasında Pİ değerlerinde anlamlı derecede düşüş saptanmıştır, ancak değerlerin kontrol grubuna göre yine de yüksek bulunması, deney grubundaki bireylerin, hastalığa bağlı görülen yapısal bozulmaların getirdiği zorluklar da göz önünde bulundurularak, plağı uzaklaştırmada kontrol grubuna göre yetersiz kaldıkları düşünülebilir. Patojenite açısından subgingival plağın önemi olmasına rağmen supragingival plak periodontitis gelişiminde ve subgingival plağın mikrobiyal içeriği üzerinde etkilidir [196]. Yeni plakta yer alan bakteriler daha zor oluşan patojen mikrofloranın gelişimi için gerekli ortamı oluşturur [197]. Bu durumda supragingival plağın ortamdan uzaklaştırılmasının, subgingival plağın içeriğini ve gelişimini etkilemesi mümkündür. Bu bağlamda her ne kadar Pİ değerlerinde anlamlı bir düşüş sağlanmış olsa da, istenilen hijyen düzeyine ulaşılamamış olması çalışmamızdaki diğer sonuçları da belli düzeyde etkilemiş olabilir.

Gingival dokunun hastalık düzeyini belirlemede, gingival indekse ilave olarak dişeti kanama zamanı indeksi kullanılmıştır. Aktif kabul edilen ceplerde kanama önemli bir bulgudur. Gİ, dokunun sağlık kriterlerini ortaya koyarken, kanama bu indekste diğer kriterlere eşlik eden bir bulgudur. Dişeti kanama zamanı indeksi sadece kanamayı esas almakta ve mevcut kanamanın hangi sürelerde oluştuğunu değerlendirmekte, yani kanama ile ilgili nispeten kantitatif bulgular sağlamaktadır. Gingival renk değişimi, dokunun vaskülarizasyonua bağlıdır. Gingival kanama ise, uyarıma karşı doku cevabını

ifade eder. DKZİ eritem ve ödemin düzeyi veya varlığı gibi gingivanın görsel değişimlerinin subjektif yorumuyla ilgili problemlerin önüne geçer, bu açıdan daha hassas değerlendirme imkanı sağlar. Ayrıca süreli klinik çalışmaların değerlendirilmesinde daha elverişlidir [162]. Kullanılan bu indeksin, çalışmamızda, hem hastalıklı grup hem de sağlıklı bireylerin gingival doku sağlığının ifadesinde önemli bir parametre olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda tedavi öncesinde; her iki deney gurubu arasında gerek ölçüm bölgesi gerekse tüm ağız Gİ değerleri açısından istatistiksel bir farklılık tespit edilemezken; her iki grubun da Gİ değerleri, sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Tedavi sonrası Gİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanırken, ulaşılan değerler kontrol grubuna göre yüksek kalmıştır. DKZİ için de benzer bir durum söz konusudur. İlaç ve plasebo grupları arasında tedavi sonrası Gİ ve DKZİ değerleri arasında anlamlı bir farklılık olmaması kullanılan NSAİ'nin (tenoxicam) bu süre içerisinde bu parametrelere ek bir etki göstermediğini düşündürmektedir. Literatürde bu konu ile ilgili çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Gerek Gİ gerekse DKZİ değerlerindeki bu azalma, başlangıç tedavisinin ve hastaların gelişen plak kontrolünün bir sonucu olarak yorumlanabilir. Loos ve ark. [198] oral hijyeni takiben, subgingival mikrobiyal ortamda herhangi bir değişiklik saptanmadan, klinik değerlerde düzelme olduğunu bildirmiştir. Bu anlamda, supragingival plak kontrolü dişetiyle ilgili enflamasyon bulgularının azalmasını sağlayabilir. Bununla birlikte gerçekleştirilen periodontal tedavi de bu etkinin güçlenmesini sağlamaktadır. Bu bulgular literatürdeki bilgilerle uyumludur [199-201]. Tedavi sonrası değerlerin kontrol grubuyla kıyaslandığında yüksek kalması, deney grubunda Pİ değerlerinin daha yüksek olması ve iyileşmenin erken döneminde ikinci ölçümlerin yapılmış olması ile açıklanabilir.

Periodontal tedaviye verilen cevabın değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan parametrelerden biri SCD'deki değişimdir. Plak kontrolünün etkin olarak yapılabilmesi ve uygulanan tedavi ile elde edilen sağlığın uzun dönem devamının sağlanması açısından SCD değerleri önem taşımaktadır. SCD dişeti kenarı ile cep tabanı arasındaki mesafeyi ifade eder. Çalışmamızda tedavi öncesinde; her iki deney gurubu arasında gerek ölçüm bölgesi gerekse tüm ağız SCD değerleri açısından istatistiksel bir farklılık tespit edilemezken; her iki grubun da SCD değerleri, sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Tedavi sonrası SCD değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanırken, ulaşılan değerler kontrol grubuna

göre yüksek kalmıştır. Ataşman kaybıyla karakterize periodontitiste cep varlığı önemli bulgulardan biridir. 10 günlük bir sürede gözlenen SCD'deki bu azalma, enflamasyon bulgularının azalması ve dişetlerindeki ödemin çözülmesi ile ilişkili olabilir. Çünkü çalışmamızda tedavi öncesi ve sonrası ataşman değerlerinde istatistiksel bir farklılık bulunmamış, yani anlamlı bir ataşman kazancı saptanmamıştır. Kurtiş ve ark.'nın [174] 10 gün takip süreli benzer bir çalışmada SCD ve ataşman seviyesinde, tedavi öncesi ve sonrası değerler açısından anlamlı bir fark tespit edilememiştir. SCD ile ilgili bulgumuz bu çalışma ile uyuşmazken, ataşman değerleri ile ilgili bulgumuz uyuşmaktadır. Ataşman değerlerinde fark bulunamamasının muhtemel nedeni ikinci ölçümlerin henüz iyileşmenin erken safhasında, kısa bir süre içinde tekrar edilmiş olmasıdır.

Tüm klinik parametreler göz önüne alındığında, genel olarak kronik periodontitis hastalarının oluşturduğu ilaç ve plasebo grupları arasında, indeks değerleri açısından gerek tedavi öncesi gerek tedavi sonrasında, istatistiksel bir farklılık tespit edilememiştir. Bu da kullanılan NSAİ'nin çalışmamızda, klinik parametreler üzerine ek bir etkisi olmadığını düşündürmektedir. NSAİ'lerin klinik parametreler üzerine etkisi üzerine yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar bulunmuştur. Vogel ve ark. [202] sulindac etken maddeli NSAİ'nin dişeti enflamasyonu üzerine etkili olduğunu bulurken; Johnson ve ark. [159] naproxen etken maddeli NSAİ'nin dişeti enflamasyonu üzerine etkili olmadığını bulmuşlardır. Offenbacher ve ark. [40] *Macaca mulatta* maymunlarına sistemik olarak uygulanan flurbiprofenin dişeti enflamasyonunu azalttığını tespit etmişlerdir. Marakoğlu ve ark. [175] yaptıkları çalışmada tenoxicam etken maddeli NSAİ'nin dişeti enflamasyonu üzerine etkili olduğunu ancak bunun klinik açıdan önemsiz olduğunu belirtmiştir. Bu açıdan bizim çalışmamız Johnson ve ark.'nın [159] bulgularıyla uyumludur. Marakoğlu ve ark.'nın [175] bulgularıyla da benzer yönler taşımaktadır. Deneysel olarak oluşturulan periodontitis modellerinde Vogel ve ark. [151] *Squirrel* maymunlarında topikal olarak uyguladıkları, Offenbacher ve ark. [40] *Macaca mulatta* maymunlarında sistemik olarak uyguladıkları NSAİ'nin ataşman kaybında azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir. Waite ve ark.'nın [147] en az bir yıl süre ile farklı NSAİ kullanan hastalar üzerinde yaptığı araştırmada, kontrol grubuna kıyasla SCD ve Gİ değerleri daha düşük bulunmuştur. Feldman ve ark.'nın [203] en az beş yıldır aspirin veya indometazin alan 75 romatoid artritli hasta üzerinde yaptığı çalışmada, diğer bireylere göre %10 veya daha yüksek oranda kemik kaybı olan daha az bölge saptanmış ve genel kemik kaybı oranı da daha düşük bulunmuştur, ancak bu fark

istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Del Puente ve ark. [204] NSAİ'lerin ataşman kaybını azaltmada etkili olabileceğini rapor etmişlerdir. Ancak bu çalışmalarda, romatizmal hastalığı olan bireylerde söz konusu olan immün mekanizmaların, çalışmanın sonucunu etkilemiş olma ihtimali göz ardı edilmemelidir. Bu nedenle bu çalışmalarda elde edilen sonuçları direkt olarak NSAİ'lere bağlamak doğru değildir. Heasman ve Seymour'un [150] en az iki yıldır NSAİ kullanan 92 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, NSAİ'lerin Pİ, Gİ, SCD, AS veya kemik kaybı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı, sadece DOS akışında azalma saptandığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızın bulguları da bu yöndedir. Plasebo grubu ve ilaç grubu klinik parametrelerindeki düşüş arasında anlamlı bir farklılık görülmemiş olması; bu düşüşün NSAİ'nin etkisinden çok, yapılan periodontal tedavi ve gelişen oral hijyen alışkanlıklarının bir sonucu olarak değerlendirilmesine neden olmaktadır.

TNF- α açısından; tedavi öncesinde kontrol grubundaki bireylerin değerleri ortalaması, deney grubundaki bireylerle karşılaştırıldığında daha düşük olmakla birlikte, gruplar arasında istatistiksel bir farklılık tespit edilememiştir. Tedavi sonrası hem ilaç grubunda, hem de plasebo grubunda TNF- α değerlerinde düşüş olmuş, ancak bu düşüş istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Yine tedavi sonrası, gruplar arasındaki değerler kıyaslandığında, sonuç istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. 1990 yılında Rossomando ve ark. [97] tarafından yapılan çalışmada, araştırmacılar sığ cep olan bölgelerde de TNF- α 'ya rastladılar. Buna dayanarak TNF- α 'nın klinik olarak hastalığın ortaya çıkmasından önce bölgede var olduğunu ve periodontal hastalık için uygun bir belirti olabileceğini rapor ettiler. Gamonal ve ark. [205] 15 kronik periodontitisli ve 8 periodontal olarak sağlıklı bireyde yaptıkları çalışmada, periodontitisli grupta DOS TNF- α total seviyelerini kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Erdemir ve ark. [90], periodontitis için majör bir çevresel risk faktörü olan sigara kullanımının DOS TNF- α seviyeleri üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar sigara kullanımının DOS TNF- α seviyelerini etkilemediğini ve periodontitisli hastalarda başlangıç periodontal tedaviyi takip eden 6 ayda DOS TNF- α düzeyinin azaldığını rapor etmişlerdir. Biz de çalışmamızda tedavi sonrası TNF- α düzeylerinin azaldığını tespit ettik, ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bunun nedeni, çalışma için seçtiğimiz süre ile ilgili olabilir. TNF- α değerlerinde gözlenen azalma, 10 günlük sürede anlamlı düzeye ulaşamamış olabilir. Ayrıca aynı araştırmacılar hem sigara kullanan hem de kullanmayan bireylerde periodontal hastalığın klinik parametreleri ile DOS TNF- α total miktarları arasında

istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptayamamışlardır ki; bu da bizim çalışmamızın sonuçlarıyla uyumludur. Benzer şekilde Yağz'ın [176] çalışmasında da klinik parametrelerle TNF- α arasında bir ilişki saptanamamıştır. Kurtiş ve ark. [206] 25 kronik periodontitisli, 20 agresif periodontitisli ve 20 periodontal olarak sağlıklı bireyden aldıkları DOS örneklerinde *Monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1) ve TNF- α seviyelerini araştırmışlardır. Bu araştırmacılar kronik periodontitisli grup ve agresif periodontitisli grup arasında DOS TNF- α total seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmada hem kronik periodontitisli grupta hemde agresif periodontitisli grupta DOS TNF- α total seviyelerinin, kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu rapor edilmiştir. Araştırmacılar kronik periodontitisli grupta DOS TNF- α total seviyeleri ile klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda DOS TNF- α total seviyesi kronik periodontitis grubunda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunsa da fark anlamlı bulunamadı. Bu açıdan bulgularımız Kurtiş ve ark. [206] ile Gamonal ve ark.'nın [205] bulgularıyla uyumsuzdur. Rossomando ve ark.'nın [97] çalışma bulguları göz önüne alındığında; kontrol grubu TNF- α değerlerinin yüksek çıkması; kontrol grubundaki bazı hastalarda mevcut olan subklinik bir enflamasyonun göstergesi olabilir. Bu nedenle bu hastalardan alınan örnekler, kontrol grubu TNF- α değerlerinin yükselmesine sebep olmuş olabilir. Klinik parametrelerle ilişki açısından, bulgularımız Erdemir ve ark.[90] ile Yağz'ın [176] çalışmalarının bulguları ile uyumlu iken Kurtiş ve ark.'nın [206] bulgusu ile uyumlu değildir. Keçeci [177] çalışmasında Faz I, Faz I + NSAİ, OHE + NSAİ olmak üzere oluşturduğu üç grubun sağlıklı bölgelerinden topladığı DOS örneklerinde, tedavi sonrasında TNF- α 'nın azaldığını tespit etmiştir. Çalışmasında DOS TNF- α seviyesiyle SCD arasında, sağlıklı bölgelerde pozitif bir ilişki belirlerken, hastalıklı bölgelerde herhangi bir ilişki tespit edememiştir. Klinik açıdan sağlıklı örnekleme bölgelerinde TNF- α ile Gİ arasında negatif bir ilişki tespit etmiştir. Bu TNF- α miktarı ile doku enflamasyonu arasında ters orantılı bir ilişki olabileceğini bildiren Rossomando ve ark.'nın [97] çalışmasıyla uyumludur. Keçeci'nin [177] çalışmasında, kronik periodontitisli bireylerin klinik açıdan sağlıklı olarak tespit edilen ölçüm bölgelerinde, TNF- α değerlerinin yüksek çıkmış olması bizim bulgularımızla da benzerlik göstermektedir. Lee ve ark. [184] yaptıkları çalışmada, aktif ve inaktif cepleri karşılaştırmış ve başlangıçta DOS TNF- α miktarının aktif ceplerde anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak 3 ay sonra bu fark ortadan kalkmıştır. Bu

sonuç Rossomando'nun [97] çalışmasıyla izah edilmeye çalışılmıştır. Böylece TNF- α 'nın prediktör olabileceği öne sürülmüş, TNF- α 'nın artan seviyelerinin inaktif bölgelerin aktifleşmesinde başlatıcı faktör olabileceği bildirilmiştir. Keçeci [177] çalışmasında sondlamada kanama ile TNF- α arasında istatistiksel olarak anlamsız, pozitif yönlü zayıf bir ilişki tespit etmiştir. Demirer ve ark.'nın [178] sigara içen ve içmeyen kronik periodontitisli bireylerde, başlangıç periodontal tedavinin DOS TNF- α üzerine etkisini araştırdığı bir çalışmada; gerek tedavi öncesi gerekse tedavi sonrası gruplar arası TNF- α değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Aynı şekilde periodontal tedavi sonucu da grupların TNF- α düzeylerinde istatistiksel bir fark gözlenmemiştir. Bu bulgular bizim sonuçlarımızla örtüşmektedir. Bizim çalışmamızda da tedavi sonrası her iki grubun TNF- α değerlerinde de düşüş gözlenmesine rağmen, fark anlamlı değildi. Gruplar arası karşılaştırmada, tedavi sonrası TNF- α değerlerinde istatistiksel bir fark bulunamaması, kullanılan süre içerisinde NSAİ'nin (tenoxicam) DOS TNF- α düzeyine, başlangıç tedavisine ek bir etkisi olmadığını düşündürmektedir. Keçeci de [177] çalışmasında, kullandığı NSAİ'nin (naproksen) 6 haftalık süre içinde DOS TNF- α seviyesi üzerinde başlangıç tedavisine ek bir etki sağlamadığı sonucuna varmıştır. Bu bulgu bizim çalışmamızla uyumludur. Demirer ve ark.'nın [178] çalışmasında tedavi öncesinde, sigara içenlerde SCD, içmeyenlerde Gİ değerleriyle korelasyon saptanırken, tedavi sonrasında hiçbir klinik parametre ile ilişki tespit edilmemiştir. Biz de hiçbir klinik parametreye TNF- α arasında bir ilişki tespit etmedik. Bu bağlamda çalışmamız literatürdeki bazı çalışmalarla uyumlu bazıları ile uyumsuzdur.

Çalışma sonuçlarımız MMP-8 açısından değerlendirildiğinde; tedavi öncesinde ilaç ve plasebo grubunu oluşturan kronik periodontitisli bireylerin DOS MMP-8 değerlerinin, sağlıklı bireylere kıyasla istatistiksel olarak yüksek olduğu görülmüştür. Tedavi sonrası her iki grubun değerlerinde de düşüş gözlenmiş, ancak değerler kontrol grubu ile kıyaslandığında, fark istatistiksel olarak yine yüksek bulunmuştur. Her iki grubun da MMP-8 değerlerinde düşüş gözlenmesine rağmen, yalnızca ilaç grubundaki düşüş anlamlı bulunmuştur. Bu bulgu kullanılan NSAİ'nin (tenoxicam) mevcut süre içerisinde MMP-8 düzeyine etkili olabileceğini düşündürmektedir. MMP-8 periodontal doku yıkımında önemli bir rol oynar. Literatürdeki birçok çalışma bu durumu destekler niteliktedir. Bu çalışmalarda periodontitis hastalarının DOS örneklerinde sağlıklı bireylere nazaran, daha yüksek seviyelerde MMP-8'e rastlanmıştır [129,134,207]. Bizim çalışmamızın verileri de bu açıdan literatürle uyumludur. Kinane ve ark.'nın

[208] başlangıç tedavisinin DOS MMP-8 seviyesi üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla yaptıkları bir çalışmada, tedavi öncesinde, 6-8. haftada ve 3. ayda 20 kronik periodontitisli hastadan DOS örnekleri toplamışlar ve başlangıç tedavisinin MMP-8 seviyesini düşürdüğünü gözlemlemişlerdir. Ancak 6 ila 8. haftada aldıkları örneklerde MMP-8 total miktarındaki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunamamış, 3. ayda ise istatistiksel açıdan anlamlı bir seviyeye ulaşmıştır. Bizim çalışmamızda da başlangıç tedavisi ile MMP-8 seviyelerinde düşüş olduğu gözlenmiştir. Ancak çalışmamızın süresi düşünüldüğünde plasebo grubunda; Kinane ve ark.'nın [208] çalışmasında olduğu gibi, bu düşüş anlamlı bir düzeye ulaşamamıştır. İlaç grubunda ise aynı süre içerisinde istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir. Bu durum kullanılan NSAİ'nin (tenoxicam) bu süre içerisinde ek bir etki sağladığını ortaya koymaktadır. NSAİ'lerin siklooksijenaz yolunu inhibe ederek, prostaglandinler, tromboksanlar ve prostasiklin sentezini engellediği bilinmektedir [35]. Birçok araştırmacı yaptıkları hayvan ve insan deneylerinde, NSAİ'lerin konak cevabını modifiye edebilme kabiliyeti üzerine çalışmıştır [35,40]. Barracchini ve ark. [209] eklem sinoviyal sıvısında in vitro olarak yaptıkları çalışmada, meloksikam ve endometazinin MMP'lerin aktivitesini inhibe edebildiğini gözlemlemişlerdir. Williams ve ark. [157] yaptıkları çalışmada, periodontal tedaviye ek olarak verilen flurbiprofenin belirgin bir terapötik ve klinik etki sağladığı sonucuna varmışlardır. Çalışma verilerimiz bu bulgularla paraleldir. Kurtiş ve ark. [174] sigara içen ve içmeyen kronik periodontitisli bireylerde, başlangıç tedavisine ek olarak verilen sistemik flurbiprofenin DOS MMP-8 ve klinik parametreler üzerine olan etkisini incelemişler, bu amaçla bizim çalışmamızda olduğu gibi hastalara 10 gün süre ile flurbiprofen etken maddeli bir NSAİ kullanırmışlardır. Sonuçta flurbiprofenin başlangıç tedavisine ek bir etki sağlamadığı sonucuna ulaşmışlardır. Kirkwood ve ark. [210] romatoid artrit ve periodontitis patolojilerini kıyasladıkları çalışmada, iki hastalık arasında birçok ortak yön tespit etmişlerdir. Her iki hastalıkta da IL-1, IL-6, TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinler ve MMP'ler yüksek düzeyde bulunmuş, her iki hastalıkta da lezyon bölgesinde enflamatuvar infiltrat tespit edilmiştir. Her ikisinde de artmış C-reaktif protein seviyesi, aktif osteoklast ve prostaglandin-E₂ varlığı, ayrıca iki hastalık üzerine de NSAİ etkinliği söz konusudur. Bu ve benzeri paralelliklerden yola çıkarak, romatoid artritli hastalarda yıllardır kullanılagelen antiinflamatuvar ilaçların, periodontitis hastalarında da terapötik amaçla kullanılması oldukça mantıklı görünmektedir. Aynı çalışmada, NSAİ'lerin özellikle kemik kaybını azaltma yönünde belirgin bir etkisi olduğu vurgulanmaktadır. Ancak bizim çalışmamızda kemik kaybı

açısından bir değerlendirme yapılmamıştır. Figueredo ve ark. [211] 21 kronik periodontitisli hastanın gingivitis ve periodontitisli bölgelerinden DOS örnekleri toplayarak, cerrahi olmayan periodontal tedavinin DOS proteaz aktivitesi üzerine kısa dönem etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarında 30. günde yeniden DOS örneği toplamışlar ve periodontitisli bireylerin hem gingivitisli hem de periodontitisli bölgelerinde MMP-8 seviyesinin düştüğünü tespit etmişlerdir. Ancak bu seviyeler yine de sadece gingivitis hastalarından oluşan kontrol grubuna göre yüksek kalmıştır. Bu bulgular da bizim çalışmamız ile paralellik göstermektedir. Rai ve ark. [212] gingivitis, periodontitis ve sağlıklı olmak üzere üç grup hastada DOS MMP-2, MMP-9 ve tükürük MMP-8 seviyelerini araştırmışlar, sonuçta tükürük MMP-8 ve DOS MMP-9 seviyelerinin periodontitisli hastalarda diğer gruplara kıyasla daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuca dayanarak, bunların periodontitis ve gingivitisin erken teşhisinde kullanılabileceğini ve periodontal hastalıklar için iyi birer biyolojik marker olabileceklerini öne sürmüşlerdir. Literatürdeki birçok diğer çalışma [213-217] gibi bizim de bulgularımız bu yöndedir. Rai ve ark. [212] çalışmalarında yaş, SCD, ataşman kaybı ve sondlamada kanama gibi klinik parametreler ile DOS MMP-2, MMP-9 ve tükürük MMP-8 seviyesi arasında istatistiksel bir ilişkinin var olduğu sonucuna varmışlardır. Biz de çalışmamızda; MMP-8 ile Pİ ÖB, Gİ ÖB, Gİ TA, DKZİ ÖB, DKZİ TA, Ataşman ÖB ve Ataşman TA değerleri arasında aynı yönlü ilişki katsayıları bulmamıza rağmen (bkz. çizelge 4.12), miktar olarak bir ilişkiyi gösterme açısından bu değerler önemsiz bulunmuştur. Figueredo ve ark. [211] çalışmalarında klinik parametrelerle, DOS proteaz seviyeleri arasında bir ilişki tespit edememiştir. Benzer şekilde Wilton ve ark. da [218] proenflamatuvar markerlarla, enflamasyonun klinik göstergeleri arasında bir ilişki olmadığını çalışmalarında göstermişlerdir.

DOS'ta konak cevabının pek çok indikatörü tespit edilmiştir. Periodontal lezyonun gelişmesinde rol alan spesifik konak mekanizmalarının tanımlanması ve bu indikatörlerle periodontal hastalığın ilerlemesi arasındaki ilişki birçok çalışmaya konu olmuştur. Bu konunun, periodontal hastalıkların teşhisinde, tedavisinde ve tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesinde yeni standartların geliştirilmesi açısından büyük önemi vardır. Çalışmalar esnasında birçok potansiyel indikatör olabilecek molekül belirlenmiş ancak, DOS'taki varlıkları ile aktif periodontal hastalık arasındaki ilişki net olarak gösterilememiştir. Bu yolda atılacak adımların, periodontal hastalıkların yıkıcı mekanizmalarının aydınlanmasında önem taşıdığı şüphesizdir.

Konak cevabının yönlendirilmesi üzerine yapılan çalışmalarda, NSAİ'lerle ilgili olarak ümit verici sonuçlar elde edilmiş, ancak bu konu da henüz netlik kazanmamıştır. NSAİ'lerle ilgili olarak literatürde değişken sonuçlara rastlanmaktadır. Başlangıç tedavisinin çoğu periodontal hastalığın tedavisinde yeterli olduğu düşünülürse ve NSAİ'lerin potansiyel yan etkileri de göz önüne alındığında, rutin klinik prosedür içinde yer almaları gereksiz gibi görünmektedir. Ancak belli periodontal hastalık tiplerinde ve belirli durumlarda kullanılmaları düşünülebilir. Özellikle kemik kaybıyla ilgili yapılan araştırmalarda NSAİ'ler oldukça olumlu sonuçlar sağlamıştır [152,154,157,203,204,219]. Buna dayanarak, örneğin; agresif periodontitis ya da rejeneratif cerrahi girişimler gibi durumlarda periodontal tedaviyi takiben, iyileşmeyi hızlandırmak ve kemik rejenerasyonuna yardımcı olmak amacıyla kullanımı düşünülebilir. Kinane ve ark. [208] çalışmalarında başlangıç tedavisinin ancak 3 ay sonra DOS MMP-8 seviyesinde anlamlı bir düşüş sağladığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise NSAİ kullanan grupta 10. günde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir. MMP-8'in yıkıcı etkileri düşünüldüğünde, bu durum, kullanılan NSAİ'nin iyileşme sürecini belirgin şekilde hızlandığını göstermektedir. Bu yönüyle, yukarıda da belirttiğimiz gibi NSAİ'ler belli durumlar için faydalı olabilirler kanaatindeyiz.

Sonuç olarak; bu çalışmada MMP-8'in hastalık aktivitesinin tespitinde bir marker olabileceğini ve tenoxicam kullanımının, DOS MMP-8 düzeyini azaltıcı yönde, başlangıç tedavisine ek bir etki sağladığını, fakat klinik parametreler üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığını tespit ettik. TNF- α ile ilgili olarak, tedavi sonrası istatistiksel açıdan anlamlı bir değişim gözlemleyemedik. Bunun nedeni çalışmamızın süresi olabilir. Ayrıca, tedavi öncesinde sağlıklı grup TNF- α değerlerinin hastalıklı grupla arasında anlamlı bir fark olmaması, klinik açıdan sağlıklı kabul edilen bu grupta, subklinik düzeyde bir enflamasyonun varlığını akla getirmiştir. Bu durum; TNF- α 'nın potansiyel bir periodontitis belirleyicisi olabileceği yönündeki çalışmaları destekler niteliktedir. Klinik parametrelerle TNF- α arasında da anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

Gerek konak immün mekanizmalarının modifiye edilmesi, gerekse de periodontal hastalıkların yıkıcı mekanizmaları ve bunların DOS ile olan ilişkileri konusunda, literatürde net bir bilgi yoktur. Oldukça karmaşık ve anlaşılması güç olan bu konu ile ilgili, yapılacak çok sayıda kontrollü ve karşılaştırmalı çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu

alışmalar periodontal hastalıkların etyopatogenezini daha iyi anlamamızı ve kontrol edebilmemizi sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Caranza, F.A. (1996). *Clinical Periodontology*, 8th Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- [2] Harper, D.S., Lamster, I.B., Celenti, R.S. (1989). Relationship of subgingival plaque flora to lysosomal and cytoplasmic enzyme activity in gingival crevicular fluid, *J. Clin. Periodontol.*, 16, 164-169.
- [3] Miller, D.R., Lamster, I.B., Chasens, A.I. (1984). Role of the polymorphonuclear leukocyte in periodontal health and disease, *J. Clin. Periodontol.*, 11, 1-15.
- [4] Polson, A.M. and Goodson, J.M. (1985). Periodontal diagnosis, Current status and future needs, *J. Periodontol.*, 56, 25-34.
- [5] Page, R.C. (1992). Host response tests for diagnosing periodontal diseases, *J. Periodontol.*, 63, 356-366.
- [6] Genco, R.J. (1992). Host Responses in Periodontal Diseases: Current Concepts, *J. Periodontol.* 63, 338-355.
- [7] Smith, Q.T., Au, G.S., Freese, P.L., Osborn, J.B., Stoltenberg, J.L. (1992). Five Parameters of Gingival Crevicular Fluid from Eight Surfaces in Periodontal Health and Disease, *J. Periodontol. Res.*, 27, 466-475.
- [8] Ingman, T., Sorsa, T., Michaelis, J., Kontinen, Y.T. (1994). Immunohistochemical study of neutrophil and fibroblast-type collagenases and stromelysin-1 in adult periodontitis, *Scand. J. Dent. Res.*, 102, 342-349.
- [9] Birkedal-Hansen, H. (1993). Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases, *J. Periodontol.*, 64, 474-484.
- [10] Woolley, D.E., Davies, R.M. (1981). Immunolocalization of collagenase in periodontal tissues, *J. Periodontal. Res.*, 16, 292-297.
- [11] Seltzer, J.L., Adams, S.A., Grant, G.A., Eisen, A.Z. (1981). Purification and properties of a gelatin-specific neutral protease from human skin, *J. Biol. Chem.*, 256, 4662-4668.
- [12] Salo, T., Lyons, J.G., Rahemtulla, F., Birkedal-Hansen, H., Larjava, H. (1991). Transforming growth factor- β 1 upregulates type IV collagenase expression in cultured human keratinocytes, *J. Biol. Chem.*, 266, 11436-11441.
- [13] Kalebic, T., Garbisa, S., Glaser, B., Liotta, L.A. (1983). Basement membrane collagen: Degradation by migrating endothelial cells, *Science*, 221, 281-283.
- [14] Sorsa, T., Ding, Y.L., Ingman, T. (1995). Cellular source, activation and inhibition of dental plaque collagenase, *J. Clin. Periodontol.*, 22, 709-717.
- [15] Sorsa, T., Tjaderhane, L., Salo, T. (2004). Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases, *Oral Dis.*, 10, 311-318.
- [16] Sorsa, T., Uitto, V.J., Suomolainen, M., Vauhkonen, M., Lindy, S. (1988) Comparison of interstitial collagenases from human gingiva, sulcular fluid and polymorphonuclear leukocytes, *J. Periodontal. Res.*, 23, 386-393.
- [17] Söder, B., Airila, Mansson, S., Söder, P.O., Kari, K., Meurman, J. (2006). Levels of matrix metalloproteinases-8 and -9 with simultaneous presence of periodontal pathogens in gingival crevicular fluid as well as matrix metalloproteinase-9 and cholesterol in blood, *J. Periodontal. Res.*, 41, 411-417.
- [18] Buduneli, N., Vardar, S., Atilla, G., Sorsa, T., Luoto, H., Baylas, H. (2002). Gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels following adjunctive use of meloxicam and initial phase of periodontal therapy, *J. Periodontol.*, 73, 103-109.

- [19] Eley, B.M. & Cox, S.W. (1992). Cathepsin B/L, elastase-, tryptase-, trypsin- and dipeptidyl peptidase IV- like activities in gingival crevicular fluid: Correlation with clinical parameters in untreated chronic periodontitis patients, *Journal of Periodontal Research*, 27, 62-69.
- [20] Eley, B.M. & Cox, S.W. (1996). A 2-year longitudinal study of elastase in human gingival crevicular fluid and periodontal attachment loss. *Journal of Clinical Periodontology*, 23, 681-692.
- [21] Golub, L., Lee, H., Greenwald, R. (1997). A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis, *Inflamm. Res.*, 46, 310-319.
- [22] Beutler, B. & Cerami, A. (1986). Cachectin and tumor necrosis factor as two sides of the same biological coin, *Nature*, 320, 584-588.
- [23] Choy, E.H.S., Panayi, G.S. (2001). Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis, *NEJM.*, 344, 907-916.
- [24] Butler, D.M., Maini, R.N., Feldmann, M., Brennan, F.M. (1995). Modulation of proinflammatory cytokine release in rheumatoid synovial membrane cell cultures: comparison of monoclonal anti TNF- α antibody with interleukin-1 receptor antagonist, *Eur. Cytokine Netw.*, 6, 225-230.
- [25] Haworth, C., Brennan, F.M., Chantry, D., Turner, M., Maini, R.N., Feldmann, M. (1991). Expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in rheumatoid arthritis: regulation by tumor necrosis factor- α , *Eur. J. Immunol.*, 21, 2575-2579.
- [26] Chin, J.E., Winterrowd, G.E., Krzesicki, R.F., Sanders, M.E. (1990). Role of cytokines in inflammatory synovitis: the coordinate regulation of intercellular adhesion molecule 1 and HLA class I and class II antigens in rheumatoid synovial fibroblasts, *Arthritis Rheum*, 33, 1776-1786.
- [27] Tilders, F.J., DeRijk, R.H., Van Dam A.M., Vincent, V.A., Schotanus, K., Persoons, J.H. (1994). Activation of the hypothalamuspituitary-adrenal axis by bacterial endotoxins: routes and intermediate signals, *Pseudoneuroendocrinology*, 19, 209-232.
- [28] Dayer, J.M., Beutler, B., Cerami, A. (1985). Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial and dermal fibroblasts, *J. Exp. Med.*, 162, 2163-2168.
- [29] Bertolini, D.R., Nedwin, G.E., Bringmani, T.S., Smith, D.D., Mundy, G.R. (1986). Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumor necrosis factors, *Nature*, 319, 516-518.
- [30] Meikle, M.C., Heath, J.K., Reynolds, J.J. (1986). Advances in understanding cell interactions in tissue resorption. Relevance to the pathogenesis of periodontal diseases and a new hypothesis, *J. Oral Pathol.*, 15, 239-250.
- [31] Lindemann, R.A., Economou, J.S., Rothermel, H. (1988). Production of interleukin-1 and tumor necrosis factor by human peripheral monocytes activated by periodontal bacteria and extracted lipopolysaccharides, *J. Dent. Res.*, 68, 1131-1135.
- [32] Heath, J.K., Atkinson, S.J., Hembry, R.M., Reynolds, J.J., Meikle, M.C. (1987). Bacterial antigens induce collagenase and prostaglandin E2 synthesis in human gingival fibroblasts through a primary effect on circulating mononuclear cells, *Infect. Immun.*, 55, 2148-2154.
- [33] Meikle, M.C., Atkinson, S.J., Ward, R.V., Murphy, G., Reynolds, J.J. (1989). Gingival fibroblasts degrade type I collagen films when stimulated with tumor necrosis factor and interleukin, *J. Periodontol. Res.*, 24, 207-213.

- [34] Offenbacher, S., Pinnix, K. & Odle, B. (1988). Measurement of tumor necrosis factor in inflamed periodontal tissues, *J. Dent. Res.*, 67, 156.
- [35] Howell, T.H., Williams, R.C. (1993). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as inhibitors of periodontal disease progression, *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 4, 177-196.
- [36] Allison, A.C. (1984). Role of macrophage activation in the pathogenesis of chronic inflammation and its pharmacological control. In: Ottorness, I., Capetola, R., Wong, S., eds. *Advances in inflammation research*, vol. 7. New York: Raven Press, s. 201-221.
- [37] Belch, J. (1988) The role of eicosanoids in inflammation. In: Good-acre J, Dick, W.C., eds. *Immunopathogenetic mechanisms of arthritis*. Boston: MTP Press, s. 26-50.
- [38] Knudsen, P.J., Dinarello, C.A., Strom, T.B. (1987). Gluco-corticoids inhibit transcription and posttranslational expression of interleukin-1 in U937 cells, *J. Immunol.*, 139, 4129-4134.
- [39] Kunkel, S.L., Chensue, S.W. (1985). Arachidonic acid metabolites regulate interleukin-1 production, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 128, 892-897.
- [40] Offenbacher, S., Braswell, L.D., Loos, A.S., Johnson, H.G., Hall, C.M., McClure, H., Orkin, J.L., Strobert, E.A., Green, M.D., Odle, B.M. (1987). Effects of flurbiprofen on the progression of periodontitis in macaca mulatta, *J. Periodont. Res.*, 22, 473-481.
- [41] Salmon, J.A., Simmons, P.M., Moncada, S. (1983). The effects of BW755C and other anti-inflammatory drugs on eicosanoid concentrations and leukocyte accumulation in experimentally-induced acute inflammation, *J. Pharm. Pharmacol.*, 35, 808-813.
- [42] Seymour, R.A. & Heasman, P.A. (1988). Drugs and periodontium, *J. Clin. Periodontol.*, 15, 1-16.
- [43] Greenstein, G. (2000). Nonsurgical periodontal therapy in 2000. A literature review, *JADA.*, 131, 1580-1592.
- [44] Newman, M.G., Takei, H.H., Carranza, F.A. (2002). *Carranza's clinical periodontology*. Philadelphia London New York St Louis Sydney Toronto: W.B Saunders Company, s. 398-402.
- [45] Flemming, T.F. (1999). Periodontitis, *Annals of Periodontology*, 4, 32-37.
- [46] Page, R.C., Offenbacher, S., Schroeder, H.E., Seymour, G.J., Kornman, K.S. (1997). Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions, *Periodontol.* 2000, 14, 216-248.
- [47] Monteiro da Silva, A.M., Oakley, D.A., Newman, H.N., Nohl, F.S., Lloyd, H.M. (1996). Psychosocial factors and adult onset rapidly progressive periodontitis, *J. Clin. Periodontol.*, 23, 789-794.
- [48] Mombelli, A., McNabb, H., Lang, N.P. (1991). Black-pigmenting gram-negative bacteria in periodontal disease. I. Topographic distribution in the human dentition, *J. Periodont. Res.*, 26, 301-307.
- [49] Schenkein, H.A., Burmeister, J.A., Koertge, T.E., Brooks, C.N., Best, A.M., Moore, L.V.H., Moore, W.E.C. (1993). The influence of race and gender on periodontal microflora, *J. Periodontol.*, 64, 292-296.
- [50] Alaluusua, S., Asikainen, S., Lai, C.H. (1991). Intrafamilial transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *J. Periodontol.*, 62, 207-210.
- [51] Moore, L.V.H., Moore, W.E.C., Riley, C., Brooks, C.N., Burmeister, J.A., Simibert, R.M. (1993). Periodontal microflora of HIV positive subjects with gingivitis or adult periodontitis, *J. Periodontol.*, 64, 48-56.

- [52] Renvert, S., Wikström, M., Helmersson, M., Dahlen, G., Claffey, N. (1992). Comparative study of subgingival microbiological sampling techniques, *J. Periodontol.*, 63, 797-801.
- [53] Socransky, S.S., Haffajee, A.D. (1992). The bacterial etiology of destructive periodontal disease: Current concepts, *J. Periodontol.*, 63, 322-331.
- [54] Papapanou, P.N. (1998). Risk assessment in the diagnosis and treatment of periodontal diseases, *J. Dent. Ed.*, 62, 822.
- [55] Vettore, M.V., Leao, A.T.T., Monteiro da Silva, A.M., Quintanilha, R.S., Lamarca, G.A. (2003). The relationship of stress and anxiety with chronic periodontitis, *J. Clin. Periodontol.*, 30, 394-402.
- [56] Monteiro da Silva, A.M., Newman, H.N., Oakley, D.A. (1995). Psychosocial factors in inflammatory periodontal diseases, *J. Clin. Periodontol.*, 22, 516-526.
- [57] Özmeric, N. (2004). Advances in periodontal disease markers, *Clinica Chimica Acta.*, 343, 1-16.
- [58] Okada, H., Kid, T., Yamagami, H. (1983). Identification and distribution of immunocompetent cells in inflamed gingiva of human chronic periodontitis, *Infect. Immun.*, 41, 365.
- [59] Zeren, H.H., Nicholas, F.C., Miyasaki, K.T. (1999). The role of cell-mediated immune response to *A. actinomycetemcomitans* and *P. gingivalis* in periodontics, *Periodontol. 2000*, 20, 239-288.
- [60] Miyasaki, K.T. (1991). The neutrophil: Mechanisms of controlling periodontal bacteria, *J. Periodontol.*, 62, 761-774.
- [61] Armitage, G.C., Jeffcoat, M.K., Chadwick, D.E., Taggart, E.J. Jr., Numabe, Y., Landis, J.R. (1994). Longitudinal evaluation of elastase as a marker for the progression of periodontitis, *J. Periodontol.*, 65, 120-128.
- [62] American Academy of Periodontology, (2000). Parameter on aggressive periodontitis. *J. Periodontol.*, (Suppl.) 71, 867-869.
- [63] İlaç ve tedavi dergisi (1992). Bir ilaç değerlendirilmesi: Tenoksikam, *İlaç ve Tedavi Dergisi*, 5, 567-574.
- [64] Kornman, K.S. (1996). The pathogenesis of periodontal diseases: An overview. Ed: Wilson, T.G. Jr., Kornman, K.S., *Fundamentals of Periodontics* pp. 3-7, Quintessence Publishing Co, Inc, Chicago, Berlin, London, Tokyo, Sao Paulo, Moscow, Prague, Warsaw.
- [65] Page, R.C., Kornman, K.S. (1997). The pathogenesis of human periodontics: An introduction, *Periodontol. 2000*, 14, 9-11.
- [66] William, V.G., Khalaf, F.A.S., David, P.S. (2003). Matrix molecules and growth factors as indicators of periodontal diseases activity, *Periodontology 2000*, 31, 125-134.
- [67] Lamster, I.B. (1997). Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests, *Ann. Periodontol.*, 2(1), 123-137.
- [68] Delima, A.J., Van Dyke, T.E. (2003). Origin and the function of the cellular components in gingival crevice fluid, *Periodontol 2000*, 31, 55-76.
- [69] Uitto, V.J. (2003). Gingival fluid- an introduction. *Periodontol 2000*, 31, 9-11.
- [70] Goodson, J.M. (2003). Gingival crevice fluid flow, *Periodontology 2000*, 31, 43-54.
- [71] Griffiths, G.S. (2003). Formation, collection and significance of gingival crevice fluid, *Periodontology 2000*, 31, 32-42.
- [72] Research, Science, and Therapy Committee of the American Academy of Periodontology, (2002). Modulation of host response in periodontal therapy, *J. Periodontol.*, 73, 460-470.

- [73] Brill, N. (1960). Gingival conditions related to flow of tissue fluid into gingival pockets, *Acta Odontol. Scand.*, 18, 421- 446.
- [74] Brill, N. (1962). The gingival pocket fluid. Studies of its occurrence, composition, and effect, *Acta Odontol. Scand.*, 20, supplement 32.
- [75] Brill, N., Krasse, B. (1959). Effect of mechanical stimulation on flow of tissue fluid through gingival pocket epithelium, *Acta Odontol. Scand.*, 17, 115-130.
- [76] Pashley, D.H. (1976). A mecanistic analysis of gingival fluid production, *J. Periodontal Res.*, 11, 121-134.
- [77] Curtis, M.A., Sterne, J.A.C., Price, S.J., Griffiths, G.S., Coulthurst, S.K., Wilton, J.M.A., Johnson, N.W. (1990). The protein concentration of gingival crevicular fluid sampled from male adolescents with no destructive periodontitis: Baseline data of a longitudinal study, *J. Periodontal Res.*, 25, 6-16.
- [78] Cimasoni, G. (1983). Crevicular fluid updated: Monographs in oral science, Basel, Karger, 3, 111-117.
- [79] Borden, S.M., Golub, L.M., Kleinberg, I. (1977). The effect of age and sex on the relationship between crevicular fluid flow and gingival inflammation in humans, *Journal of Periodontal Research*, 12, 160-165.
- [80] Schenck, K., Poppelsdorf, D., Denis, C., Tollefsen, T. (1993). Levels of salivary IgA antibodies reactive with bacteria from dental plaque are associated with susceptibility to experimental gingivitis, *J. Clin. Periodontol.*, 20, 411-417.
- [81] Heasman, P.A., Collins, J.G., Offenbacher, S. (1993). Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 β , leukotriene B4, prostoglandin E2, tromboxane B2, and tumor necrosis factor α in experimental gingivitis in humans, *Journal of Periodontal Research*, 28, 241-247.
- [82] Akalin, F.A., Toklu, E., Renda, N. (2005). Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls, *J. Clin. Peridontol.*, 32, 238–243.
- [83] Alexander, D.C.C., Martin, J.C., King, P.J., Powell, J.R., Caves, J., Cohen, M.H. (1999). Interleukin 1 beta , prostoglandin E2, and immunoglobulin G subclasses in gingival crevicular fluid in patients undergoing periodontal therapy, *J. Periodontol.*, 67, 755-762.
- [84] Jin, L., Soder, B., Corbet, E.F. (2000). Interleukin-8 and granulocyte elastase in gingival crevicular fluid in relation to periodontopathogens in untreated adult periodontitis, *J. Periodontol.*, 71, 929-939.
- [85] Brill, N. (1962). The gingival pocket fluid. Studies of its occurance composition and effect, *Acta Odont. Scand.*, 20(supp.32), 1-115.
- [86] Rudin, H.J., Overdiek, H.F., Rateitschack, H.K. (1970). Correlation between sulcus fluid rate and clinical and histological inflammation of the marginal gingiva, *Helv. Odont. Acta.*, 14, 21-26.
- [87] Eley, B.M., Cox, S.W. (1998). Advences in periodontal diagnosis 5. Potential inflammatory and immune markers, *British Dental Journal*, 184(5), 220-223.
- [88] Balkwill, F.R., Burke, F. (1989). The cytokine network. *Immunology Today*, 9, 299-304.
- [89] Nardin, E. (2001). The role of inflammatory and immunological mediators in periodontitis and cardiovascular disease, *Ann. Periodontol.*, 6(1), 30-40.
- [90] Erdemir, E.O., Duran, I., Haliloğlu, S. (2004). Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF- α in patients with chronic periodontitis, *J. Clin. Periodontal.*, 31, 99-104.
- [91] Gorska, R., Gregorek, H., Kowalski, J., Laskus-Perendyk, A., Syczewska, M., Madalinski, K. (2003). Relationship between clinical parameters and cytokine

- profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis, *J. Clin. Periodontol.*, 30, 1046-1052.
- [92] Munoz, C., Carlet, J., Fitting, C. (1991). Dysregulation of in vitro cytokine production by monocytes during sepsis, *The Journal of Clinical Investigation*, 88, 1747-1754.
- [93] Dinarello, C.A. (1998). Interleukin-1, interleukin-1 receptors and interleukin-1 receptor antagonist, *International Reviews of Immunology*, 16, 457-499.
- [94] Rossomondo, E.F., White, L. (1993). A novel method for the detection of TNF-alpha in gingival crevicular fluid, *J. Periodontol.*, 64(5), 445-449.
- [95] Carswel, E.A., Old, L.J., Kassel, R.L., Gren, S., Fiore, N., Williamson, B. (1975). An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 72, 3666-3670.
- [96] Graves, D.T., Cochran, D. (2003). The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction, *J. Periodontol.*, 74, 391-401.
- [97] Rossomando, E.F., Kennedy, J.E., Hadjimihael, J. (1990). Tumor necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans, *Arch. Oral Biol.*, 35, 431-434.
- [98] Day, R.O. (1988). Mode of action of non-steroidal anti-inflammatory drugs, *Med. J. Aust.*, 148, 195-201.
- [99] Baqui, A.A.M.A., Meiller, T.F., Jabra-Rizk, M.A., Zhang, M., Kelley, J.I., Falklerwa, J.R. (2000). Enhanced interleukin 1 β , interleukin 6 and tumor necrosis factor α in gingival crevicular fluid from periodontal pockets of patients infected with human immunodeficiency virus 1, *Oral Mikrobiol. Immunol.*, 15, 67-73.
- [100] Sheikhi, M., Gustafson, A., Jarstrand, C. (2000). Cytokine, elastase and oxygen radical release by *Fusobacterium nucleatum*-activated leukocytes: a possible pathogenic factor in periodontitis, *J. Clin. Periodontol.*, 27, 758-762.
- [101] Ataoğlu, H., Alptekin, N.O., Haliloğlu, S., Gursel, M., Ataoğlu, T., Serpek, B., Durmuş, E. (2002). Interleukin-1 β , tumor necrosis factor- α levels and neutrophil elastase activity in peri-implant crevicular fluid, *Clin. Oral Impl. Res.*, 13, 470-476.
- [102] Takashiba, S., Naruishi, K., Murayama, Y. (2003). Perspective of cytokine regulation for periodontal treatment: Fibroblast biology, *J. Periodontol.*, 74, 103-110.
- [103] Tracey, K.J. (1997). Tumor necrosis factor, Remick, D.G., Friedland, J.S. (Ed.) *Cytokines in Health and Disease*, s.223-240, New York: Marcel Dekker.
- [104] Bruunsgaard, H., Skinhoj, P., Pedersen, A.N., Schroll, M., Pedersen, B.K. (2000). Ageing, tumour necrosis factor-alpha (TNF-a) and atherosclerosis, *Clin. Exp. Immunol.*, 121, 255-260.
- [105] Assuma, R., Oates, T., Cochran, D., Amar, S., Graves, D.T. (1998). IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis, *Journal of Immunology*, 160, 403-409.
- [106] Oates, T.W., Graves, D.T., Cochran, D.L. (2002). Clinical, radiographic and biochemical assessment of IL-1/TNF-alpha antagonist inhibition of bone loss in experimental periodontitis, *Journal of Clinical Periodontology*, 29, 137-143.
- [107] Sequeira, P., Bosshardt, D.D., Schroeder, H.E. (1992). Growth of acellular extrinsic fiber cementum (AEFC) and density of inserting fibers in human premolars of adolescents, *J. Periodont. Res.*, 27, 134-142.
- [108] Salonen, J., Uitto, V.J., Pan, Y.M., Oda, D. (1991). Proliferating oral epithelial cells in culture are capable of both extracellular and intracellular degradation of interstitial collagen, *Matrix*, 11, 43-55.

- [109] Schwartz, Z., Carries Jr., D.L., Pulliam, R., Lohmann, C.H., Sylvia, V.L., Liu, Y., Dean, D.D., Cochran, D.L., Boyan, B.D. (2000). Porcine fetal enamel matrix derivative stimulates proliferation but not differentiation of pre-osteoblastic 2T9 cells, inhibits proliferation and stimulates differentiation of osteoblast-like MG63 cells, and increases proliferation and differentiation of normal human osteoblast NHOst cells, *J. Periodontol.*, 71, 1287-1296.
- [110] Terranova, V.P., Wikesjö, (1987). U.M.E. Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of functions of cells in the periodontium. A review, *J. Periodontol.*, 58, 371-380.
- [111] Birkedal-Hansen, H. (1993). Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction, *J. Periodont. Res.*, 28, 500-510.
- [112] Ryan, M.E., Ramamurthy, N.S., Golub, L.M. (1996). Matrix metalloproteinases and their inhibition in periodontal treatment, *Curr. Opinion Periodont.*, 3, 85-96.
- [113] Tschesche, H. & Pieper, M. (1998). *Handbook of Proteolytic Enzymes*, Academic Press, San Diego, s. 1162-1167.
- [114] Denis, F.K. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease, *Periodontol. 2000*, 25, 8-14.
- [115] Lopez-Otin, C., Overall, CM. (2002). Protease degradomics: a new challenge for proteomics, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 3, 509-519.
- [116] Reynolds, J.J., Hembry, R., Meikle, M. (1994). Connective tissue degradation in health and periodontal disease and the roles of matrix metalloproteinases and their natural inhibitors, *Adv. Dent. Res.*, 8, 312-319.
- [117] Uitto, V.J., Overall, C.M., McCulloch, C. (2003). Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid, *Periodontol. 2000*, 31, 77-104.
- [118] Dahan, M., Nawrocki, B., Elkaim, R., Soell, M., Nbolcato-Bellemin, A-L., Birempaut, P., Tenenbaum, H. (2002). Expression of matrix metalloproteinases in healthy and diseased human gingiva, *J. Clin. Periodontol.*, 29(2), 6-16.
- [119] Kinane, D.F. (2000). Regulators of tissue distraction and homeostasis aids in periodontology, *Periodontol. 2000*, 24, 215-225.
- [120] Ryan, M.E., Golub, L.M. (2000). Modulation of matrix metalloproteinase activities in periodontitis as a treatment strategy, *Periodontol. 2000*, 24, 226-238.
- [121] Heath, J.K., Gowen, M., Meikle, M.C., Reynolds, J.J. (1982). Human gingival tissues in culture synthesize three metalloproteinases and a metalloproteinase inhibitor, *J. Periodont. Res.*, 19, 183-190.
- [122] Golub, L.M., McNamara, T.F., Ryan, M.E. (2001). Adjunctive treatment with subantimicrobial doses of doxycycline: Effects on gingival fluid collagenase activity and attachment loss in adult periodontitis, *J. Clin. Periodontol.*, 28, 146-156.
- [123] Ingman, T., Sorsa, T., Konttinen, Y., Saari, H., Lindy, O., Suomalainen, K. (1993). Salivary collagenase, elastase and trypsin-like proteases as biochemical markers of periodontal destruction in adult and localized juvenile periodontitis, *Oral Microbiol. Immunol.*, 8, 298-305.
- [124] Okada, H., Murakami, S. (1998). Cytokine expression in periodontal health and disease, *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 9(3), 248-266.
- [125] Ingman, T., Tervahartiala, T., Ding, Y., Tschesche, H., Haerian, A., Kinane, D.F., Konttinen, Y.T., Sorsa, T. (1996). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients, *J. Clin. Periodontol.*, 23, 1127-1132.
- [126] Kili, M., Cox, S.W., Chen, H.W., Wahlgren, J., Maisi, P., Eley, B.M., Salo, T., Sorsa, T. (2002). 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.*, 29, 224–232.
- [127] Lee, W., Aitken, S., Kulkarni, G. (1991). Collagenase activity in recurrent periodontitis: Relationship to disease progression and doxycycline therapy, *J. Periodont. Res.*, 26, 479-485.
- [128] Meikle, M.C., Hembry, R.M., Holley, J., Horton, C., McFarlane, C.G., Reynolds, J.J. (1994). Immunolocalization of matrix metalloproteinases and TIMP-1 (tissue inhibitor of metalloproteinases) in human gingival tissues from periodontitis patients, *J. Periodont. Res.*, 29, 118–126.
- [129] Romanelli, R., Mancini, S., Laschinger, C., Overall, C.M., Sodek, J., McCulloch, C.A. (1999). Activation of neutrophil collagenase in periodontitis, *Infect. Immun.*, 67, 2319–2326.
- [130] Sorsa, T., Mantyla, P., Rönka, H., Kallio, P., Kallis, G.B., Lundqvist, C., Kinane, D.F., Salo, T., Golub, L.M., Teronen, O., Tikanoja, S. (1999). Scientific basis of a matrix metalloproteinase-8 specific chair-side test for monitoring periodontal and periimplant health and disease, *Ann. NY. Acad. Sci.*, 878, 130–140.
- [131] Golub, L.M., Lee, H.M., Ryan, M.E., Giannobile, W.V., Payne, J., Sorsa, T. (1998). Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms, *Adv. Dent. Res.*, 12, 12–26.
- [132] Golub, L.M., Sorsa, T., Lee, H.M., Ciancio, S., Sorbi, D., Ramamurthy, N.S., Gruber, B., Salo, T. & Konttinen, Y.T. (1995). Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)- type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingiva, *J. Clin. Periodontol.*, 22, 100–109.
- [133] Haerian, A., Adonogianaki, E., Money, J., Manos, A., Kinane, D.F. (1996). Effects of treatment on gingival crevicular collagenase, stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinases and their ability to predict response to treatment, *J. Clin. Periodontol.*, 23, 83-91.
- [134] Lee, W., Aitken, S., Sodek, J., McCulloch, C.A. (1995). Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo role of active enzyme in human periodontitis, *J. Periodont. Res.*, 30, 23– 33.
- [135] Mantyla, P., Stenman, M., Kinane, D., Salo, T., Suomalainen, K., Tikanoja, S., SorsaT. (2006). Monitoring periodontal disease status in smokers and nonsmokers using a gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8-specific chair-side test, *J. Periodont. Res.*, 41, 503–512.
- [136] Nomura, T., Ishii, A., Oishi, Y., Kohma, H., Hara, K. (1998). Tissue inhibitors of metalloproteinases level and collagenase activity in gingival crevicular fluid: the relevance to periodontal diseases, *Oral Dis.*, 4, 231–240.
- [137] Caughey, D. (1989). A study of the safety of tenoxicam in general practice, *NZ. Med. J.*, 102, 582-583.
- [138] Chen, H.Y., Cox, S.W., Eley, B.M., Mantyla, P., Rönka, H., Sorsa, T. (2000). Matrix metalloproteinase-8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients, *J. Clin. Periodontol.*, 27, 366–369.
- [139] Greenwald, R., Moak, S., Ramamurthy, N., Golub, L. (1992). Tetracyclines suppress metalloproteinase activity in adjuvant arthritis, and in combination with flurbiprofen, ameliorate bone damage, *J. Rheum.*, 19, 927-938.
- [140] Ding, Y., Uitto, V.J., Firth, J., Salo, T., Haapasalo, M., Konttinen, Y.T., Sorsa, T. (1995). Modulation of host matrix metalloproteinases by bacterial virulence factors relevant in human periodontal diseases, *Oral Dis.*, 1, 279-286.

- [141] Tervahartiala, T., Pirila, E., Ceponis, A., Maisi, P., Salo, T., Tuter, G., Kallio, P., Tornwall, J., Srinivas, R., Konttinen, Y.T., Sorsa, T. (2000). The in vivo expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases (MMP-2, -8, -13, and -14) and matrilysin (MMP-7) in adult and localized juvenile periodontitis, *J. Dent. Res.*, 79, 1969-1977.
- [142] Buduneli, E., Vardar, S., Buduneli, N., Atilla, G., Sorsa, T., Whalgren, J. (2007). Matrix metalloproteinases, TIMP-1, Laminin-5 gamma2 chain immunolocalization in gingival tissue of endotoxin-induced periodontitis in Rats. Effects of low dose doxycycline and alendronate, *J. Periodontol.*, 78(1), 127-134.
- [143] Kuru, L., Kirby, A.C., Griffiths, G.S., Petrie, A., Olsen, I. (2005). Changes in soluble adhesion molecules in gingival crevicular fluid following periodontal surgery, *J. Periodontol.*, 76, 526-533.
- [144] Machtei, E., Dunford, R., Hausmann, E., Grossi, S.G., Powell, J., Cummins, D., Zambon, J.J. & Genco, R.J. (1997). Longitudinal study of prognostic factors in established periodontitis patients, *J. Clin. Periodontol.*, 24, 102-109.
- [145] Williams, R.C. (1999). Non-steroidal anti-inflammatory drugs for altering periodontal bone loss, *J. Dent. Res.*, 78, 638-642.
- [146] Sorsa, T., Lukinmaa, P.L., Westerlund, U., Ingman, T., Ding, Y., Tschesche, H., Konttinen, Y.T., Helaakoski, T., Salo, T. (1996). The expression, activation and chemotherapeutic inhibition of matrix metalloproteinase-8 (neutrophil collagenase/ collagenase-2) in inflammation. In: *Biological mechanisms of tooth movement and craniofacial adaptation*, ed Davidovitch, Z. & Norton, L.A., pp. 317-323. Boston, Massachusetts.
- [147] Waite, I.M., Saxton, C.A., Young, A., Wagg, B.J., Corbett, M. (1981). The periodontal status of subjects receiving non-steroidal anti-inflammatory drugs, *J. Periodont. Res.*, 16, 100-108.
- [148] Gallardo, F., Rossi, E. (1990). Analgesic efficacy of flurbiprofen as compared to acetaminophen and placebo after periodontal surgery, *J. Periodontol.*, 61, 224-227.
- [149] Kayaalp, S.O. (1992). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 6. Baskı, Feryal Matbaacılık San. Tic. Ltd. Şti. Ankara, s. 2035-2053.
- [150] Heasman, P.A., Seymour, R.A. (1990). An association between long term non-steroidal anti-inflammatory drug therapy and the severity of periodontal disease, *J. Clin. Periodontol.*, 17, 654-658.
- [151] Vogel, R.I., Schneider, L., Goteiner, D. (1986). The effects of a topically active non-steroidal anti-inflammatory drug on ligature-induced periodontal disease in the squirrel monkey, *J. Clin. Periodontol.*, 13, 139-144.
- [152] Williams, R.C., Jeffcoat, M.K., Howell, T.H., Reddy, M.S., Johnson, H.G., Hall, C.M., Goldhaber, P. (1988). Ibuprofen: An inhibitor of alveolar bone resorption in beagles, *J. Periodont. Res.*, 23, 225-229.
- [153] Howell, T.H., Fiorellini, J., Weber, H.B., Williams, R.C. (1991). Effect of the NSAID piroxicam, topically administered, on the development of gingivitis in beagle dogs, *J. Periodont. Res.*, 26, 180-183.
- [154] Jeffcoat, M.K., Williams, R.C., Reddy, M.S., English, R., Goldhaber, P. (1988). Flurbiprofen treatment of human periodontitis: effect on alveolar bone height and metabolism, *J. Periodont. Res.*, 23, 381-385.
- [155] Graham, G.G. (1987). Pharmacokinetics and metabolism of non-steroidal anti-inflammatory drugs, *Med. J. Aust.*, 147, 597-602.

- [156] Williams, R.C., Jeffcoat, M.K., Kaplan, M.L., Goldhaber, P., Johnson, H.G., Wechter, W.J. (1984). Flurbiprofen: A potent inhibitor of alveolar bone resorption in beagles, *Science*, 227, 640-642.
- [157] Williams, R.C., Jeffcoat, M.K., Howell, T.H., Rolla, A., Stubbs, D., Teoh, K.W., Reddy, M.S., Goldhaber, P. (1989). Altering the progression of alveolar bone loss with the non-steroidal anti-inflammatory drug flurbiprofen, *J. Periodontol.*, 60, 485-490.
- [158] Jeffcoat, M.K., Page, R., Reddy, M., Wannawisute, A., Waite, P., Palcanis, K., Cogen, R., Williams, R.C., Basch, C. (1991). Use of digital radiography to demonstrate the potential of naproxen as an adjunct in the treatment of rapidly progressive periodontitis, *J. Periodont. Res.*, 26, 415-421.
- [159] Johnson, R.H., Armitage, G.C., Francisco, C., Page, R.C. (1990). Assessment of the efficacy of a non-steroidal anti-inflammatory drug, naprosyn, in treatment of gingivitis, *J. Periodont. Res.*, 25, 230-235.
- [160] Kaplan, H.B., Edelson, H.S., Korchak, H.M., Given, W.P., Abramson, S., Weissman, G. (1984). Effect of non-steroidal anti-inflammatory agents on human neutrophil functions in vitro and in vivo, *Biochemical Pharmacology*, 33, 371-378.
- [161] Minta, J.O., Williams, D. (1985). Some non-steroidal anti-inflammatory drug inhibit the generation of superoxide anions by activated polymorphs by blocking ligand-receptor interactions, *J. Rheumatol.*, 12, 751-757.
- [162] Nowicki, D., Vogel, R.I., Mekers, S., Deasy, M.J. (1981). The Gingival Bleeding Time Index, *J. Periodontol.*, 52, 260-262.
- [163] Silness, J., Løe, H. (1964). Periodontal disease in pregnancy II. Correlation of between oral hygiene and periodontal condition, *Acta. Odontol. Scand.*, 22, 121-135.
- [164] Løe, H., Silness, J. (1963). Periodontal disease in pregnancy I. Prevalance and severity, *Acta. Odontol. Scand.*, 21, 531-551.
- [165] Klaus, H., Rateitschak, E.M., Wolf, H.F., Hassell, T.M. (1989). Initial therapy. Ed: Rateitschak K.H., *Color Atlas of Dental Medicine 1. Periodontology*, 2nd ed., pp. 145-206, Thieme Medical Publishers, Inc., New York.
- [166] Uitto, V.J., Raeste, A.M. (1978). Activation of latent collagenase of human leukocytes and gingival fluid by bacterial plaque, *J. Dent. Res.*, 57, 844-851.
- [167] Waerhaug, J. (1966). Anatomy, physiology and pathology of the gingival pocket, *Rev. Belge. Med. Dent.*, 21, 9-15.
- [168] Bang, J.S., Cimasoni, G. (1971). Total protein in human crevicular fluid, *J. Dent. Res.*, 50, 1683.
- [169] Golub, L.M., Siegel, K., Ramamurthy, N.S., Mandel, I.D. (1976). Some characteristics of collagenase activity in gingival crevicular fluid and its relationship to gingival diseases in humans, *J. Dent. Res.*, 55, 1049-1057.
- [170] Ohlsson, K., Olsson, I., Tynelius-Bratthall, G. (1973). Neutrophil leukocyte collagenase, elastase and serum protease inhibitors in human gingival crevices, *Acta. Odontol. Scand.*, 31, 51-59.
- [171] Alfano, M.C. (1974). The origin of gingival fluid, *J. Theor. Biol.*, 47, 127-136.
- [172] Griffiths, G.S. (2003). Formation, collection and significance of gingival crevicular fluid, *Periodontology 2000*, 31, 32-42.
- [173] Tüzün, C. (1992). *Biyokimya. Değişikliklerle İkinci Baskı*. Palme Yayınları, s. 125-150, Ankara.
- [174] Kurtis, B., Tuter, G., Serdar, M., Pinar, S., Demirel, I., Toyman, U. (2007). GCF MMP-8 Levels in Smokers and Non-Smokers With Chronic Periodontitis Following

- Scaling and Root Planing Accompanied by Systemic Use of Flurbiprofen, *J. Periodontol.*, 78(10), 1954-1961.
- [175] Marakoğlu, İ., Ataoğlu, T., Kurtoğlu, F., Serpek, B. (1998). Periodontitisli Bireylerde Non-Steroid Antienflamatuar İlaç (Tenoxicam)' ın Dişeti Cep Sıvısı Beta-Glukuronidaz ve Laktat Dehidrogenaz Aktivitelerine Etkisi, *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi Cilt 1, Sayı 1*.
- [176] Yağız, H. (2006). Plağa Bağlı Gingivitisli, Kronik Periodontitisli ve Periodontal Olarak Sağlıklı Bireylerin Dişeti Oluğu Sıvısı ve Tükürük Örneklerinde Nitrik Oksit ve Tümör Nekrozis Faktör Alfa Seviyelerinin Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Erzurum.
- [177] Keçeci, A. (1998). Erişkin Periodontitisli Bireylerde Dişeti Oluğu Sıvısında TNF-alfa Düzeylerinin İncelenmesi ve Nonsteroidal Antienflamatuar İlaçların Tedaviye Etkisinin Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [178] Demirer, S., Marakoğlu, İ., Poyraz, Ö. (2007). Sigara İçen ve İçmeyen Bireylerde Başlangıç Periodontal Tedavinin Dişeti Oluğu Sıvısı Tümör Nekroz Faktör- α Düzeyleri Üzerine Etkisi, *S.Ü. Dişhek. Fak. Derg.*, 16, 7-14.
- [179] Informational paper (2002). Modulation of the host response in periodontal therapy, *J. Periodontol.*, 73, 460-470.
- [180] Giamopoulou, C., Kama, J.J., Mombelli, A. (2003). Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level, *J. Clin. Periodontol.*, 30, 145-153.
- [181] Sjöström, L., Laurell, L., Hugoson, A., Hakansson, J.P. (1989). Periodontal conditions in adults with rheumatoid arthritis, *Community Dent. Oral Epidemiol.*, 17, 234-236.
- [182] Offenbacher, S., Williams, R.C., Jeffcoat, M.K., Howel, T.H., Odle, B.M., Smith, M.A., Hall, C.M., Johnson, H.G., Goldhaber, P. (1992). Effect of NSAIDs on beagle crevicular cyclooxygenase metabolites and periodontal bone loss, *J. Periodont. Res.*, 27, 207-213.
- [183] Abramson, M.M., Wolff, L.F., Offenbacher, S., Aepli, D.M., Hardie, N.D., Friedman, H.D. (1992). Flurbiprofen effect on gingival crevicular fluid prostaglandin and tromboxane levels in humans, *J. Periodont. Res.*, 27, 539-543.
- [184] Lee, H.J., Kang, I.K., Chung, C.P., Choi, S.M. (1995). The subgingival microflora and gingival crevicular fluid cytokines in refractory periodontitis, *J. Clin. Periodontol.*, 22, 885-890.
- [185] Yavuzylmaz, E., Yamalık, N., Bulut, Ş. (1995). The gingival crevicular fluid Interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α levels in patients with rapidly progressive periodontitis, *Australian Dental Journal*, 40(1), 46-49.
- [186] Engebretson, S.P., Grbic, J., Singer, R., Lamster, I.B. (2002). GCF profiles in periodontal disease, *J. Clin. Periodontol.*, 29, 48-53.
- [187] Engebretson, S.P., Hey-Hadavi, J., Ehrhardt, F.J., Hsu, D., Celenti, R.S., Grbic, J., Lamster, I.B. (2004). Gingival crevicular fluid levels of interleukin- 1[and glycemic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes, *J. Periodontol.*, 75, 1203-1208.
- [188] Griffiths, G.S., Curtis, M.A., Wilton, J.M.A. (1988). Selection of a filter paper with optimum properties for the collection of gingival crevicular fluid, *J. Periodont. Res.*, 23, 33-38.
- [189] Lamster, I.B., Hartley, L.J., Vogel, R.I. (1985). Development of a biochemical profile for gingival crevicular fluid. Methodological considerations and evaluation

- of collagen-degrading and ground substance-degrading enzyme activity during experimental gingivitis, *J. Periodontol.*, 56 (suppl.), 13-21.
- [190] Lamster, I.B., Oshrain, R.L., Gordon, J.M. (1988). A comparison of 4 methods of data presentation for lysosomal enzyme activity in gingival crevicular fluid, *J. Clin. Periodontol.*, 15, 347-352.
- [191] Adonogianaki, E., Money, J., Kinane, DF. (1996). Detection of stable and active periodontitis sites by clinical assessment and gingival crevicular acute-phase protein levels, *J. Periodont. Res.*, 31, 135-143.
- [192] Okuda, K., Miyazaki, A., Momose, M., Murata, M., Nomura, T., Kubota, T., Wolff, L.F., Yoshie, H. (2001). Levels of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and matrix metalloproteinases-1 and -8 in gingival crevicular fluid following treatment with enamel matrix derivative (EMDOGAIN), *J. Periodont. Res.*, 36, 309-316.
- [193] Said, S., Mohd, H., Sander, L., Ronka, H., Sorsa, T., Kinane, D.F. (1999). GCF levels of MMP-3 and MMP-8 following placement of bioresorbable membranes, *J. Clin. Periodontol.*, 26, 757-763.
- [194] Lamster, I.B., Harper, D.S., Goldstein, S. (1989). The effect of sequential sampling on crevicular fluid volume and enzyme activity, *J. Clin. Periodontol.*, 53, 296-301.
- [195] Hou, L.Y., Liu, C.M., Rossomando, E.F. (1995). Crevicular interleukin-1 β in moderate and severe periodontitis patients and the effect of phase I periodontal treatment, *J. Clin. Periodontol.*, 22, 162-167.
- [196] Sbordone, L., Ramaglia, L., Gulletta, E., Iacono, V. (1990). Recolonization of the- subgingival microflora after scaling and root planning in human periodontitis, *J. Periodontol.*, 61, 579-584.
- [197] Umeda, M., Takeuchi, Y., Naguchi, K., Huang, Y., Koshy, G., Ishikawa, I. (2004). Effects of nonsurgical periodontal therapy on the microbiota, *Periodontol.* 2000, 36, 98-121.
- [198] Loos, B., Claffey, N., Crigger, M. (1998). Effect of oral hygiene measures on clinical and microbiological parameters of periodontal disease, *J. Clin. Periodontol.*, 15, 211-216.
- [199] Badersten, A., Nilveus, R., Egelberg, J. (1981). Effect of non-surgical periodontal therapy. I. Moderately advanced periodontitis, *J. Clin. Periodontol.*, 8, 57-72.
- [200] Lindhe, J., Westfelt, E., Nyman, S. (1982). Healing following surgical / non-surgical treatment of periodontal disease, *J. Clin. Periodontol.*, 9, 115-128.
- [201] Listgarten, M.A., Lindhe, J., Hellden, L.B. (1978). Effect of tetracycline and / or scaling on human periodontal disease, *J. Clin. Periodontol.*, 5, 246-271.
- [202] Vogel, R.I., Copper, S.A., Schneider, L.G., Goteiner, D. (1984). The effects of topical steroidal and systemic non-steroidal anti-inflammatory drugs on experimental gingivitis in man, *J. Periodontol.*, 55, 247-251.
- [203] Feldman, R.S., Szeto, B., Chauncey, H.H., Goldhaber, P. (1983). Non-steroidal anti-inflammatory drugs in the reduction of human alveolar bone loss, *J. Clin. Periodontol.*, 10, 131-136.
- [204] Del Puente, A., Shlossman, M., Arevalo, A. (1988). Relationship of rheumatoid arthritis and periodontal disease, *J. Dent. Res.*, 67 (Spec. Issue), 371 (Abstr. 2064).
- [205] Gamonal, J., Sanz, M., O'Connor, A., Acevedo, A., Suarez, I., Sanz, A., Martinez, B., Silva, A. (2003). Delayed neutrophil apoptosis in chronic periodontitis patients, *J. Clin. Periodontol.*, 30, 616-623.

- [206] Kurtis, B., Tuter, G., Serdar, M., Akdemir, P., Uygur, C., Firatli, E., Bal, B. (2005). Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 and tumor necrosis factor-alpha in patients with chronic and aggressive periodontitis, *J. Periodontol.*, 76, 1849-1855.
- [207] Mancini, S., Romanelli, R., Laschinger, C.A., Overall, C.M., Sodek, J., McCulloch, C.A. (1999). Assessment of a novel screening test for neutrophil collagenase activity in the diagnosis of periodontal diseases, *J. Periodontol.*, 70, 1292–1302.
- [208] Kinane, D.F., Darby, I.B., Said, S., Luoto, H., Sorsa, T., Tikanoja, S., Mantyla, P. (2003). Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance, *J. Periodont. Res.*, 38, 400–404.
- [209] Barracchini, A., Franceschini, N., Minisola, G. (1999). Meloxicam and indomethacin activity on human matrix metalloproteinases in synovial fluid, *Ann. NY. Acad. Sci.*, 878, 665-666.
- [210] Kirkwood, K.L., Taba, Jr. M., Rossa, C., Giannobile, W.V. (2006). In: Newman, M.G., Takei, H., Carranza, F.A., Klokkevold, Y.J. Comparison of pathology of periodontal disease and rheumatoid arthritis. Carranza's Clinical Periodontology, 10th Ed. St. Louis: Elsevier, Chapter 12.
- [211] Figueredo, C.M.S., Areas, A., Mirandal, L.A., Fischer, R.G., Gustafsson, A. (2004). The short-term effectiveness of non-surgical treatment in reducing protease activity in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients, *J. Clin. Periodontol.*, 31, 615–619.
- [212] Balwant Rai, Simmi Kharb, Rajnish Jain, Suresh, C. Anand. (2008). Biomarkers of periodontitis in oral fluids, *Journal of Oral Science*, 50(1), 53-56.
- [213] Miller, C.S., King, C.P., Langup, M.C., Kryscio, R.J., Thomas, M.V. (2006). Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study, *J. Am. Dent. Assoc.*, 137, 322-329.
- [214] Villela, B., Cogen, R.B., Bartolucci, A.A., Birkedal-Hansen, H. (1987). Collagenolytic activity in crevicular fluid from patients with chronic adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and gingivitis, and from healthy control subjects, *J. Periodontal Res.*, 22, 381-389.
- [215] Sorsa, T., Suomalainen, K., Uitto, V.J. (1990). The role of gingival crevicular fluid and salivary intersititial collagenases in human periodontal diseases, *Arch. Oral Biol.*, 35, 193-196.
- [216] Gangbar, S., Overall, C.M., McCulloch, C.A., Sodek, J. (1990). Identification of polymorphonuclear leukocyte collagenase and gelatinase activities in mouthrinse samples: correlation with periodontal disease activity in adult and juvenile periodontitis, *J. Periodontal Res.*, 25, 257-267.
- [217] Novak, M.J., Johns, L.P., Miller, R.C., Bradshaw, M.H. (2002). Adjunctive benefits subantimicrobial dose doxycycline in the management of severe, generalized, chronic periodontitis, *J. Periodontol.* 73, 762-769.
- [218] Wilton, J.M., Bampton, J.L., Griffiths, G.S., Curtis, M.A., Life, J.S., Johnson, N.W., Powell, J.R., Harrap, G.J. & Critchley, P. (1992). Interleukin-1 beta (IL-1 beta) levels in gingival crevicular fluid from adults with previous evidence of destructive periodontitis. A cross sectional study, *Journal of Clinical Periodontology*, 19, 53–57.
- [219] Ruttimann, V.E., Valk, S.A., Engelke, W.H., Wright, W.E., Cain, J.L. (1991). Effect of Flurbiprofen in Alveolar Bone Loss Assessed by Subtraction Radiography, *J. Dent. Res.*, 70, 1616 (Abstr.).

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Ankara'da doğdum. orta-öğrenimimi Çankaya YDAL'de tamamladıktan sonra, 1997 yılında Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi'ne girerek, 2003 yılında mezun oldum. 2004-2005 yıllarında Ankara K.K.K Destek Kıtaları Grup Komutanlığında askerlik görevimi tamamladım. Ardından Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji AD.'nda doktora eğitimime başladım.