

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**PERİİMLANT VE PERİODONTAL HASTALIKLARDA
NÖROJENİK ENFLAMASYONUN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Sertaç SERT

**Samsun
Temmuz-2013**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**PERİİMLANT VE PERİODONTAL HASTALIKLARDA
NÖROJENİK ENFLAMASYONUN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Sertaç SERT

Danışman: Prof. Dr. N. Umur SAKALLIOĞLU

**Samsun
Temmuz-2013**

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince yoğun çalışma temposu içerisinde bana zaman ayıran, bilgilerini ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. N. Umur SAKALLIOĞLU' na,

Eğitimim süresince ve tez çalışmam boyunca destek ve yardımlarından dolayı Anabilim Dalı Başkanı' m değerli hocam Sayın Prof. Dr. Gökhan AÇIKGÖZ' e,

Tez çalışmamın laboratuvar aşamasının Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Anabilim Dalı'nda yapılmasına olanak sağlayan, çalışmam süresince danıştığım her konuda yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Murat GÜNAYDIN' a,

Çalışmamın planlanmasında ve çalışma süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşıp, yol gösteren hocam Sayın Doç. Dr. Elif Eser SAKALLIOĞLU' na,

Tezimin istatistiksel analizlerini gerçekleştiren ve bilgilerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Soner ÇANKAYA' ya,

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım bütün hocalarıma,

Çalışmamın gerçekleştirilebilmesi için destek sağlayan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü'ne ve Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Üyelerine (proje no: PYO.DIS.1904.12.002),

Destek, sevgi ve arkadaşlıkları için başından beri beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma,

Sonsuz sevgi ve destekleriyle hayatımın her aşamasında bana yol gösteren, aileme,

Her zorlukta yanımda olup, saygı, sevgi ve desteğini hep hissettiğim sevgili eşim Selin' e ve hayatımı değerli kılan biricik kızım Beril'ime...

Çok Teşekkür Ederim.

ÖZET
PERİİMLANT VE PERİODONTAL HASTALIKLARDA NÖROJENİK
ENFLAMASYONUN İNCELENMESİ

Amaç: Periimplant ve periodontal hastalıklar etiyopatogenezleri ve patobiyolojileri itibariyle büyük benzerlikler göstermektedir. Çalışmamızda, periimplant ve periodontal hastalıklarda nörojenik enflamasyonun incelenmesi ve karşılaştırılması amacıyla lokal periimplant/ periodontal nöropeptid oluşumu ve salınımı değerlendirildi.

Materyal ve Metod: Aynı ağızda sağlıklı periodontal/periimplant dokulara sahip en az bir dişi/implantı olan 13 birey ve, aynı dağılım ve sayılarda gingivitisli/periimplant mukozitisli ve periodontitisli/periimplantitisli dişi/implantı olan 13'er hastadan oluşan 39 bireyden, 13'er dişi/implant olacak şekilde 6 çalışma grubu oluşturuldu. Sağlıklı diş ve implantlar sırasıyla grup 1 ve grup 2, gingivitisli/periimplant mukozitisliler grup 3 ve grup 4 ve, periodontitisli/periimplantitisli olanlar ise sırasıyla grup 5 ve grup 6 olarak sınıflandırıldı. SP, NKA, CGRP ve NPY nöropeptidlerinin gruplardaki dişeti oluğu sıvısı/periimplant oluğu sıvısı düzeyleri ELISA yöntemi ile belirlenerek nörojenik enflamasyon değerlendirildi. Periodontal/periimplant sağlığın tespitinde kullanılan rutin klinik muayene verileri de çalışma parametreleri olarak kullanıldı.

Bulgular: Nöropeptid düzeyleri bağımsız çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gösterirken ($p < 0,001$), bağımlı gruplarda yalnızca NKA için grup 5 ve 6 arasında anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,01$). Tüm gruplarda SP ve NKA düzeyleri sağlıklıdan hastalığa geçildikçe artış gösterirken, CGRP ve NPY ters orantılı olarak değişim gösterdi ($p < 0,001$). SP ve NKA birbirleriyle pozitif korelasyon gösterirken, CGRP ve NPY ile negatif korelasyon gösterdi ($p < 0,001$). CGRP ve NPY'nin birbirleriyle pozitif bir korelasyon içinde olduğu görüldü ($p < 0,001$).

Sonuç: Çalışma bulgularımız periimplant dokularda lokal nöropeptid salınımının olabileceğini ve periimplant hastalıklarda periodontal hastalıklardakine benzer bir nörojenik enflamatuvar sürecin varlığını ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Nörojenik enflamasyon, Nöropeptidler, Periimplant hastalık, Periodontal hastalık

Sertaç SERT, Doktora Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Temmuz-2013

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE NEUROGENIC INFLAMMATION IN PERIIMPLANT AND PERIODONTAL DISEASES

Aim: Periimplant and periodontal diseases demonstrate similarities by means of their etiopathogenesis and pathobiology. In our study, local periimplant/periodontal neuropeptid production and release were evaluated to investigate and compare the neurogenic inflammation in periimplant and periodontal diseases.

Material and Method: Thirteen individuals with at least 1 tooth/implant with healthy periodontal/periimplant tissues, 13 patients with gingivitis/periimplant mucositis and 13 patients with periodontitis/periimplantitis as of similar distribution and number were allocated from 39 individuals to constitute the study groups. Healthy teeth and implants, the teeth/implants with gingivitis/periimplant mucositis and periodontitis/periimplantitis were classified as groups 1, 2, 3, 4, 5 and 6 respectively. The gingival crevicular and perimplant crevicular fluid levels of SP, NKA, CGRP and NPY neuropeptids were determined by ELISA to evaluate the neurogenic inflammation. Data of the routine clinical examination for periodontal/periimplant health determination were also utilized as the study parameters.

Results: The neuropeptide levels were statistically different in the independent groups ($p < 0.001$) while were only statistically different for NKA between groups 5 and 6 in the dependent groups ($p < 0.01$). SP and NKA demonstrated an increase from health to disease in contrary to CGRP and NPY ($p < 0.001$). There was a positive correlation between SP and NKA, and negative correlations between them and CGRP and NPY ($p < 0.001$). CGRP and NPY demonstrated a positive correlation between each other ($p < 0.001$).

Conclusion: Our study findings reveal that local neuropeptide release may be in periimplant tissues and that periimplant diseases may have a neurogenic inflammatory process similar to periodontal diseases.

Keywords: Neurogenic inflammation, Neuropeptides, Periimplant disease, Periodontal disease

Sertaç SERT, Ph.D. Thesis

Ondokuz Mayıs University Samsun, July-2013

SİMGELER VE KISALTMALAR

AIDS	:Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendromu
AST	:Aspartat amino transferaz
BOS	:Beyin omurilik sıvısı
C3a	:Kompleman 3a
C5a	:Kompleman 5a
Ca ⁺⁺	:Kalsiyum iyonu
cAMP	:Siklik adenzin mono fosfat
CD14	:Farklılaşma kümesi 14
CGRP	:Kalsitonin Gen İlişkili Peptit
DOS	:Diş Eti Oluğu Sıvısı
ELİSA	:Enzyme-linked immunosorbent assay
GABA	:Gama amino bütirik asit
GI	:Gingival indeks
HLA	:İnsan lökosit antijeni
IL-1	:İnterlökin 1
IL-12	:İnterlökin 12
IL-1 β	:İnterlökin 1 beta
IL-2	:İnterlökin 2
IL-4	:İnterlökin 4
IL-6	:İnterlökin 6
IL-8	:İnterlökin 8
KAK	:Klinik ataşman kaybı
KOAH	:Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LPS	:Lipopolisakkarit
LTA	:Lipoteikoik asit
MMP	:Matriks metalloproteinaz
mRNA	:Haberci Ribonükleik Asit
NKA	:Nörokinin A
NKB	:Nörokinin B

NPY	:Nöropeptit Y
NSAID	:Steroid olmayan anti enflamatuar ilaç
PAR	:Proteaz aktivasyon reseptörü
PCR	:Polimeraz zincir reaksiyonu
PGE ₂	:Prostaglandin E 2
PGI ₂	:Prostaglandin I 2
PI	:Plak indeksi
PMNL	:Polimorf nüveli lökosit
POS	:Periimplant Oluğu Sıvısı
PVN	:Post ventriküler nükleus
RNA	:Ribonükleik Asit
SK	:Sondalamada kanama
SP	:P Maddesi
TGF- β	:Transforme edici büyüme faktörü beta
Th	:Yardımcı T lenfosit hücresi
TNF- α	:Tümör nekrotizan faktör alfa
TRPV	:Transient reseptör potansiyel vanilloid
VIP	:Vazoaktif intestinal polipeptid
VR	:Vanilloid reseptör

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Enflamasyon	6
2.1.1. Periodontal Enflamasyon	7
2.2. Periodontal Hastalıklar	9
2.2.1. Plağa Bağlı Gingivitis	10
2.2.2. Kronik Periodontitis	11
2.3. Periimplant Hastalıklar	13
2.3.1. Periimplant Mukozitis	13
2.3.2. Periimplantitis	14
2.4. Periodontal Hastalıkların Patogenezi	14
2.5. DOS ve POS Önemi	18
2.6. Trigeminal Sinir Anatomisi	19
2.6.1. Oral İnnervasyon	20
2.6.2. Periodonsiyumun Sinir Ağı	21
2.6.3. Periodotal İnnervasyon.....	22
2.6.4. Duyusal Sinirlerin Aktivasyonu.....	23
2.7. Nörojenik Enflamasyon.....	25
2.7.1. Nöropeptidler	27
2.7.2. Nöropeptidlerin Sentezlenmesi	30
2.7.3. Nöropeptidlerin Salınımı.....	31
2.7.4. Nöropeptidlerin Reseptörleri.....	31
2.7.5. Nöropeptidlerin Yıkılması.....	32
2.8. Periodontal Sağlıkta ve Hastalıkta Nöropeptidler	33
2.8.1. Gingival ve Periodontal Dokularda Nöropeptidler	33
2.8.2 Nöropeptidler ve Periodontitis	34

2.8.3 Nöropeptidler ve Kemik.....	35
3. MATERYAL VE METOT	37
3.1. Hasta Popülasyonu.....	37
3.2. Periodontal ve Periimplant Değerlendirme.....	37
3.3. Klinik Verilerinin Toplanması ve Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	39
3.4. Laboratuvar İşlemleri.....	43
3.4.1. DOS/POS Elüsyonu.....	43
3.4.2. Örneklerin Analizi.....	44
3.5. İstatistiksel Analiz.....	45
4. BULGULAR	46
4.1. Klinik Bulgular	46
4.2. ELISA Bulguları	48
5. TARTIŞMA.....	56
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR.....	64
EK 1- Etik Kurul Onayı.....	84
EK 2- Hasta Gönüllü Onam Formu Örneği.....	85
ÖZGEÇMİŞ	89

1. GİRİŞ

Periodontal hastalıklar genel anlamıyla; mikrobiyal dental biyofilm akümülyasyonu sonucunda spesifik mikroorganizmalar ve/veya spesifik mikroorganizma gruplarının çevresel faktörler ve konak etkileşimi ile neden olduğu, dişeti ile sınırlı ve geri dönüşümlü “gingivitis”; ve patolojik cep oluşumu, periodonsiyumun (periodontal ligament, alveol kemiği ve sement) destrüksiyonu, dişeti çekilmesi veya her ikisinin birlikte görüldüğü geri dönüşümsüz “periodontitis” şeklinde görülen, diş destek dokularının kronik enflamatuvar hastalıkları olarak tanımlanabilir. Periimplant hastalıklar ise ilk kez Mombelli ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada ortaya konmuş ve birçok özelliği ile periodontal hastalığa benzer tarzda periimplant dokuların enfeksiyöz bir hastalığı olarak tanımlanmıştır (Mombelli ve ark., 1987). Günümüzde ise periimplant hastalıkların tanımı; destek kemik kaybı gözlenmeden implant çevresi mukozada var olan enflamasyonu ifade eden “periimplant mukozitis” ve mevcut mukozal enflamasyona ek olarak destek kemik kaybı da görülen “periimplantitis” şeklinde yapılmaktadır (Lindhe ve Meyle, 2008).

Nörojenik enflamasyon, periferik nöral yapılardan lokal olarak salınan nöropeptidlerin uyarımı (lokal peptiderjik innervasyon) ile enflamatuvar süreçte meydana gelen patobiyolojik olaylar zinciri olarak tanımlanır (Lundy ve Linda, 2004). Nörojenik enflamasyon, enflamatuvar sürecin düzenlenmesinde kritik öneme sahiptir ve bu lokal peptiderjik innervasyon mekanizmasının enflamatuvar hastalıkların aktif bir belirleyicisi olduğu kabul edilmektedir (Jansco ve ark. 1967, Bartold ve ark. 1994). Duyusal nöropeptitler nörojenik enflamasyonda vazodilatasyon, plazma ekstravazasyonu ve immün hücrelerin salıverilmesi gibi önemli fonksiyonlara sahiptirler. Nöropeptitlerin daha yaygın bir fonksiyonu da immün hücrelerin aktivasyonunu düzenlemektir. Enflamasyon süresince peptiderjik periferik lifler oluşur ve nöropeptit miktarı artar (Kvinnslund ve Heyeraas 1992, Byers ve Taylor 1993, Awawdeh ve ark. 2002a). Peptid içerikli sinir liflerinden özellikle makrofajlar ve mast hücreleri olmak üzere immün sistem hücrelerinden salıverilir (Toriya ve ark. 1997, Kabashima ve ark. 2002). Ayrıca, immün hücreler ile ilgili olarak tanımlanmış fonksiyonel nöropeptit reseptörlerinin, nöroimmünomodulasyondaki nöropeptitlerin

düzenlenmesi için de önemli olduğu ileri sürülmüştür (Hartung ve ark. 1986, McGillis ve ark. 1991).

Von Euler ve Gaddum (1931) ilk defa “Substance P” (P maddesi) adı verilen vazoaaktif maddeyi keşfetmişlerdir. SP (P maddesi)’nin, 11 aminoasitten oluşan bir polipeptit olup tüm memeli türleri için tanımlayıcı olduğuna inanılmaktadır ve Taşikinin ailesinin nöropeptit üyesi bir nörokinin olarak bilinmektedir. Bilinen iki tane daha nörokinin mevcuttur: NKA (nörokinin A) ve NKB (nörokinin B). SP ve NKA, Preprotaşikinin A geninin rutin transkripsiyon ürününe alternatif olarak bağlanması sonucu oluşur (Nawa ve ark.1984). Preprotaşikinin A geninin sitokinler, glikortikoidler, nöropeptitler ve lipopolisakkaritler tarafından aktive edildiği gösterilse de mekanizmaları hala açıklanamamıştır (Rameshwar 1997). SP ve NKA enterik yol üzerinde yoğun bir şekilde çalışılmış ve NKB’ den farklı olarak benzer bir dağılıma sahip olduğu bildirilmiştir (Helke ve ark.1991). SP ve NKA enterik nöronlar ve kapsaisine duyarlı primer afferent nöronlar gibi periferel sinirlerde bulunurken, NKB’ ye periferel dokularda rastlanmamıştır. SP ve NKA, seviyelerinin dozuna bağlı olarak nörojenik enflamasyonla ilgili geniş bir biyolojik aktiviteye sahiptirler. SP, direkt olarak düz kas hücrelerine etki ederek ve indirekt olarak da mast hücrelerinden histaminin salınımını uyararak vazodilatasyona neden olur. Taşikinin peptidler güçlü pro-enflamatuvar özellikleri sayesinde mikrovasküler permeabilite artışı, ödem ve plazma protein ekstrasvazasyonu gibi önemli periferel etkiler oluştururlar (Lundy ve Linden 2004).

“Calcitonin Gen-Related Protein (Kalsitonin Gen İlişkili Peptit)”, Amara ve öğrencilerinin (1982) kalsitonin genin RNA’sının alternatif çalışması sonucu oluşan mRNA’nın oluşturduğu peptit olarak keşfedilmiştir. CGRP (Kalsitonin Gen İlişkili Peptit), 37 aminoasitten oluşan bir peptit olup, tüm memeli türlerinde çok ince farklarla birbirinden ayrılan düzen sergiler ve santral/periferel sinir sisteminde geniş dağılım gösterirken, duyuusal sinirlerde özellikle yüksek miktarlarda bulunur. CGRP vazodilatör aktivite potansiyeli olan bir peptit olup sıklıkla SP etrafında lokalizedir. Aslında CGRP’nin vazodilatör aktivitesini SP’nin düzenlediğinin gösterilmesi, bu lokalizasyonun önemli fonksiyonel bir özellik olduğunu desteklemektedir (Brain ve ark., 1985, Brain ve Williams, 1989). SP’nin aksine CGRP’nin, İnterlöklin-2’yi ve sıçanlardaki T hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı gösterilmiştir (Wang ve ark.

1992). CGRP direkt olarak stimüle edilmemiş Yardımcı T hücresi (Th) klonlarının sitokinlerine etki ederek atipik sitokin salınımını neden olur (Levite 1998). Bu nedenle Th fenotiplerinin polarizasyonuna da etki etmiş olur.

Nöropeptid Y (NPY), 36 aminoasitten oluşan bir peptit olup, domuz beyninden izole edilmiştir ve adını N- ve C-terminal tirozinlerinden alır. İnsan, sıçan, tavşan ve Gine domuzu NPY açısından tam bir homolojiye sahiptir. Hem immünohistokimyasal, hem de radyo immüno girişim çalışmalarında, NPY'nin potansiyel vazokonstriksiyon aktivitesi gösterdiği ve santral/periferal sinir sisteminden geniş salınımının meydana geldiği bildirilmiştir (Lundberg ve ark. 1985). Potansiyel anjiogenik özelliğe sahiptir ve düşük fizyolojik konsantrasyonda damarlanma ve endotel hücresi proliferasyonunu uyarır (Zukowska-Grojec ve ark. 1998). Buna bağlı olarak da NPY'nin doku gelişim ve onarımında rolü olabileceği düşünülebilir.

Periodontal hastalıklarda nörojenik enflamasyon ile ilgili yapılmış çalışmalar olmakla birlikte, özellikle nöropeptidlerin periodontal hastalıklara özgün olarak (gingivitis ve/veya periodontitis) lokal innervasyonunun incelendiği ve yine bilinen nöropeptidlerin ayrı ayrı ve bütüncül olarak periodontal hastalıklardaki rollerinin/etkilerinin incelendiği araştırmalar sınırlı sayıdadır (Azuma ve ark. 2004, Lundy ve ark. 2009). Bununla birlikte, periodontal hastalıklarda bilinen nöropeptidlerin ayrı ayrı ve bütüncül olarak rollerinin/etkilerinin incelendiği ve karşılaştırıldığı araştırmalar da sınırlı kalmıştır.

Peptiderjik nöronların dişetini uyarması (Luthman ve ark. 1988, 1989) ve DOS (dişeti oluğu sıvısı) içeriğinde nöropeptitlerin tanımlanması ile (Linden ve ark. 1997/2002, Lundy ve ark. 1999/2000, Hanioka ve ark. 2000) periodontitis ve diğer orafasiyal enflamatuvar bozuklukların belirli nöropeptit dengesizlikleri sonucu oluştuğunun kanıtı gün geçtikçe artmaktadır. Gingivitisli ve periodontitisli hastaların etkilenmiş bölgelerinden alınan dokulardaki nörokimyasal belirteçlerin dağılımı Luthman ve ark. (1989) ve Bartold ve ark. (1994) nöropeptitlerin periodontitisin patogeneziindeki olası rolünü açıklamalarına imkan vermiştir. Genel olarak SP, NKA ve CGRP içeren sinirler, nosisepsiyonu kontrol edip, kan akışını ve yaralanmaya karşı oluşan doku reaksiyonunu düzenlerler (Olgart 1996, Sessle 2000). Bu nöropeptidlerin DOS seviyelerindeki değişikliklerin periodontal sağlık ve hastalıkla ilişkili olabileceği

daha önceleri yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Linden 1997, Lundy ve ark. 1999/2000, Sakallıoğlu ve ark., 2008). Gingivitisli bölgeler periodontal olarak sağlıklı bölgelerle karşılaştırıldığında periodontal olarak sağlıklı bölgelerde antienflamatuvar nöropeptid seviyelerinin artabileceği belirlenmiştir (Lundy ve ark. 1999; 2000), antienflamatuvar nöropeptit CGRP'nin hızlı ve selektif azalmasının, SP ve NKA' dan farklı olarak, periodontal enflamasyondaki nöropeptidlerin proenflamatuvar etkilerini arttırabileceğini bildirmişlerdir. CGRP nöropeptidinin osteogenezi uyarıp, osteoklastik kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiğinin bilinmesi, bu nöropeptidin azalmasının periodontal yıkımla ilişkilendirilebileceğini göstermektedir (Kontinen ve ark. 1996). Ancak günümüzde, periodontal hastalıklarda nörojenik enflamasyonla ilgili belirli düzeyde bilgi olmasına rağmen periimplant hastalıklarda bu konuda henüz yeterli veri bulunmamaktadır. Ayrıca, periimplant hastalıkların patobiyolojisinde nörojenik enflamasyonun rolü/etkisi ve periimplant dokularda implant materyalinin lokal peptiderjik innervasyona yol açıp açmadığı henüz açıklanamamıştır.

Periimplant hastalıkların patogenezi ve patolojisinin periodontal hastalıklarla benzer özellikte olması, periodontal hastalıkların teşhisinde kullanılan yöntemlerin önemli bir kısmının periimplant hastalıklarda da kullanılmasını büyük ölçüde kaçınılmaz kılmaktadır. Periodontal sağlığın belirlenmesinde kullanılan klinik ve radyolojik yöntemler benzer ve/veya modifiye edilmiş bir şekilde periimplant sağlığın belirlenmesinde de kullanılabilir. Yine DOS gibi POS (periimplant oluğu sıvısı) da toplanabilmekte ve henüz özgünlüğü tam olarak kanıtlanmasa da tanı yöntemi olarak kullanılabilir. DOS hacmi artışı ve içeriğindeki değişimler sağlıktan hastalığa geçişte periodontal dokularda oluşan enflamatuvar cevabın değerlendirilmesinde klinik bulguların yanında önemli parametreler olarak kabul edilmektedir (Offenbacher ve ark.1993). Daha önce yapılmış çalışmalarda benzer şekilde periimplant dokuların enflamatuvar durumuyla uygunluk gösteren POS hacmi ve içeriği değişimleri tespit edilmiştir (Tözüm ve ark 2007, Güncü ve ark. 2008).

Çalışmamızda, hem periimplant ve periodontal hastalıklardaki nörojenik enflamasyonu incelemeye ve karşılaştırmaya hem de dental implantların bu anlamda özgün bir etkisi olup olmadığını incelemeye yönelik olarak: (i) periimplant ve periodontal hastalıklarda nöropeptidlerin lokal salınımlarının tespiti, (ii) oluşan bu lokal peptiderjik innervasyonun periimplant ve periodontal hastalıklardaki rolünün ayrı ayrı

ve detaylı olarak incelenmesi, (iii) periimplant ve periodontal hastalıklardaki lokal peptiderjik innervasyonun kıyaslanması ve (iv) dental implantların lokal nöropeptid salınımına etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enflamasyon

Enflamasyon doku hasarı ya da yaralanmaya karşı, temel anlamıyla vasküler kaynaklı olarak gösterilen bir yanıttır. Genellikle koruma maksatlı olup, etken ajanın uyarısı devam ettikçe kronik doku hasarına sebebiyet verebilir. Yeni tedavi girişimlerinin gelişmesine katkıda bulunmak için enflamasyonun hareketi ve kontrolü üzerine şu anda çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Enflamatuvar yanıtın büyüklüğü çok önemlidir; az miktardaki oluşan bir yanıt enfeksiyona yol açabileceği gibi, romatoid artrit gibi hastalıklarda aşırı yanıtla bağlı morbidite de gözlenebilir (Lundy ve Linden, 2004).

Bir asırı aşkın süre önce Bayliss, dorsal kök sinir gangliyonu aktivasyonunun periferik vazodilatasyon ile sonuçlandığını gözlemleyen ilk kişi olmuştur (1901). Bu araştırmacının bahsettiği “akson refleksi” tanımı, daha sonra deri üzerinde yapılan ve yaralanmaya karşı oluşan “üçlü yanıt” olarak görülen enflamatuvar cevap mekanizması ile daha fazla anlam kazanmıştır. Buna göre, mekanik uyarana karşı:

1. Kılcal damarların göstermiş olduğu tepki nedeni ile oluşan çizgi,
2. Vazodilatasyon ve artmış kan akımına bağlı hasarın ya da yaralanmanın etrafında gözlenen lokal ateş ve
3. Artmış vasküler permabilite ve ödeme bağlı şişlik oluşması temelinde sinir aktivasyonu yatmaktadır (Lewis ve Zotterman, 1927).

Ateş ve şişliğin, sensör ilişkili akson refleksi sonucu oluştuğu kabul edilmiş ve bunun komşu dokuları travmaya karşı uyarmak için bir sinyal mekanizması olduğu düşünülmüştür. von Euler ve Gaddum, kan basıncını düşürebilen bir bileşik izole etmişler ve SP olarak adlandırmışlardır (1931). Lembeck ve Holzer, SP'nin duyuşal nörotransmitter olduğu öngörüsünü ancak 20 yıl sonra sentetik SP elde edildiğinde yapabilmışlerdir (1979). SP'ye karşı oluşan vazodilatör yanıt ve bu maddenin bir nörotransmitter oluşu, Dale' in akson-refleksi vazodilatasyon kimyasal transmitteri ile omurilik sinapslarındaki duyuşal transmitterlerin aynı olduğu önerisini doğrulamıştır (1985). Çünkü bu kimyasallar aynı nöronun periferik ve santral ucundan ayrı ayrı

salınmaktadır. Günümüzde vücudun birçok dokusundaki duyuşal sinirlerde, akşon refleksi meydana geldiği ve bunun hastalıklarda gözlenen nöropeptidlerin pro-enflamatuvar rolünün asıl sebebi olduğu varsayılmaktadır. Duyusal nöronların enflamasyonun vasküler yönündeki rolünü gösteren birçok çalışma mevcuttur. “Nörojenik Enflamasyon” terimi sinir siteminin lokal enflamasyon yanıtına katkısını tanımlamak için kullanılmıştır (Jancsó ve ark., 1967).

2.1.1. Periodontal Enflamasyon

Periodontal hastalıklar, bakteriyel plağa karşı gelişen, dişi çevreleyen dokularda enflamasyonla karakterize enfeksiyöz hastalıklardır. Bu enflamasyonun kontrol altına alınmadığı durumlarda ataşman ve kemik kaybı meydana gelir (Loesche ve ark., 2001). Periodontal hastalıkların başlaması ve ilerlemesi için spesifik bakterilerin var olması gerekmektedir, ancak periodontitisin sonucu olarak ortaya çıkan doku yıkımı, enfeksiyon ile başlar ve konağın koruyucu-yıkıcı mekanizmalarındaki dengesizlik sonucu oluşur (şahingür ve Cohen, 2004).

Yapılan araştırmalarda, ağız ortamında 700 farklı tür mikroorganizmanın kolonize olabildiği ve tek bir diş yüzeyi üzerinde bulunan supragingival plakta on milyardan daha fazla mikroorganizma olabildiği gösterilmiştir (Moore ve ark., 1994). Kısa dönemli deneysel çalışmalarda mikroorganizmaların oral hijyen alışkanlıklarının bırakılmasını takiben temiz diş yüzeylerinde hızlı bir şekilde kolonize olduğu gösterilmiştir. Oral hijyen alışkanlıklarının bırakılmasını takiben ilk birkaç gün içinde gingivitisin klinik ve mikroskopik semptomları görülmeye başlar (Loe ve ark., 1965). Bu enflamatuvar değişiklikler uygun oral hijyen yöntemlerinin uygulanmasıyla geri döner (Van Der Weijden ve ark., 1994). Aksi halde gingivitis, takiben de periodontitis gelişimi başlar ve bu gelişim konağın immün ve enflamatuvar cevabından etkilenir (Kinane, 2001). Ancak her gingivitis periodontitise dönüşmez (Tatakis ve Kumar, 2005). Periodontitis; alveolar kemik, periodontal ligament, sement ve dişetini içeren dişi destekleyen ve çevreleyen dokularda yıkımla karakterize enfeksiyöz bir hastalıktır (Kinane, 2001). Periodontal hastalıklarda görülen patolojik süreç mikrobiyal olarak başlayan doku yıkımına konağın verdiği cevapla ilişkili olarak gelişir (Sorsa ve ark., 2006).

Page ve Schröder periodontal hastalıkların gelişim evrelerini klinik ve histopatolojik olarak değerlendirmişler ve bu evreleri başlangıç, erken, yerleşmiş ve ilerlemiş periodontal lezyon olarak belirtmişlerdir (1976). Başlangıç ve erken lezyon gingivitisin erken dönem evrelerini, yerleşmiş lezyon kronik gingivitis ve ilerlemiş lezyon ise periodontitisin histopatolojik ve klinik özelliklerini tanımlamakta olup gingivitisten periodontitise geçiş aşaması olarak belirtilmiştir. Başlangıç lezyonu, plak birikimini takiben 2-4 gün içinde görülür, klinik bulgu vermez (Löe ve ark., 1965) ve plak birikimine karşı akut enflamatuvar cevap olarak tanımlanır (Zachrisson 1968; Payne ve ark., 1975). Başlangıç lezyonu, dişeti oluşu bölgesinde sınırlıdır ve birleşim epitelinin bir kısmı ile bağ dokusunun en koronal kısmı etkilenmiştir. Histolojik olarak arteriollerde, kapillerlerde ve venlerde genişleme görülür. Damar geçirgenliğinde artış mevcuttur. DOS'da artış, birleşim ve oluk epitelinin altındaki ven pleksuslarından dişeti oluşuna ve birleşim epiteline doğru nötrofil göçü söz konusudur. enflamatuvar infiltrat bağ dokusunun % 5-10'unu oluşturmaktadır ve bu bölgede bağ doku kaybı söz konusudur (Payne ve ark., 1975). Erken lezyon aşaması plak birikimini takiben yaklaşık 7 gün sonra başlar. Mononükleer lökositlerin sayısı artmıştır. Birleşim epitelinin altındaki damarlar genişlemiş durumdadır ve sayıları artmıştır. Lezyonun çevresinde T lenfositler ve makrofajlar sayıca baskındır ve az miktarda plazma hücresi gözlenir. Bu evrede dişeti bağ dokusunun % 15'i etkilenmiştir ve etkilenen bölgedeki kollajenin % 60-70'i yıkıma uğramıştır. Kollajen yıkımıyla meydana gelen boşlukları enflamatuvar hücreler doldurmuştur. Enflamatuvar değişiklikler klinik olarak ödem ve eritem olarak görülür (Löe ve ark., 1965). Plak birikiminden 2-3 hafta sonra yerleşmiş lezyon evresi başlar. Bu evrede dişetinde klinik olarak daha fazla ödem ve mavimsi kırmızı renk değişikliği görülür. Lezyondan etkilenen alanlar artmıştır. Plazma hücreleri ve B lenfositler lezyon çevresindeki baskın hücre tipidir. Kronik gingivitis aşaması olan bu evre ya aylar, hatta yıllarca ilerlemez, değişmeden kalır, ya da artan yıkımla birlikte ilerlemiş lezyon evresine geçer (Seymour ve ark., 1983). Klinik olarak yerleşmiş gingivitis lezyonlarında kemik kaybı ve epitelyal ataşmanın kök yüzeyi boyunca apikale göçü görülmez. Periodontitis ise klinik olarak epitelyal ataşmanın apikale göçü, periodontal ceplerin oluşması ve kemik kaybıyla karakterizedir (Kinane, 2001). Albandar ve arkadaşları kişiden kişiye değişiklik göstermekle birlikte, gingivitisten periodontitise geçiş için 6 aydan fazla bir süreye ihtiyaç olduğunu öne sürmüşlerdir

(1999). İlerlemiş lezyon evresinde periodontal cep oluşumu, cebin yumuşak doku duvarında ülserasyon, alveolar kemik ve periodontal ligamentte yıkım gözlenir (Seymour ve ark., 1979).

2.2. Periodontal Hastalıklar

Periodontal hastalıklar günümüze kadar çeşitli şekillerde sınıflandırılmış olmakla birlikte bugün kabul edilen son sınıflama 1999 Uluslararası Periodontoloji Çalıştay'nda kabul edilen sınıflamadır (Armitage, 1999). Bu sınıflama şu şekildedir:

I. Dişeti hastalıkları:

A. Dental plağa bağlı dişeti hastalıkları:

1. Sadece dental plağa bağlı gingivitis
2. Sistemik hastalıklar tarafından modifiye edilmiş dişeti hastalıkları
3. İlaçlar tarafından modifiye edilmiş dişeti hastalıkları
4. Beslenme bozukluğu tarafından modifiye edilmiş dişeti hastalıkları

B. Plağa bağlı olmayan dişeti hastalıkları:

1. Belirli bir bakteriyel kökeni olan dişeti hastalıkları
2. Viral kökenli dişeti hastalıkları
3. Mantar kökenli dişeti hastalıkları
4. Genetik kökenli dişeti hastalıkları
5. Sistemik durumların dişeti belirtileri
6. Travmatik lezyonlar
7. Yabancı madde reaksiyonları
8. Tanımlanmamış lezyonlar

II. Kronik Periodontitis:

- A. Lokalize
- B. Generalize

III. Agresif Periodontitis:

- A. Lokalize
- B. Generalize

IV. Sistemik hastalıkların göstergesi olan periodontitis:

- A. Hematolojik bozukluklarla ilişkili
- B. Genetik bozukluklarla ilgili
- C. Tanımlanmamış durumlar

V. Nekrotizan periodontal hastalıklar:

A. Nekrotizan ülseratif gingivitis

B. Nekrotizan Ülseratif periodontitis

VI. Periodonsiyum Abseleri:

A. Periodontal abseler

B. Perikoronar abseler

VII. Endodontik lezyonlarla ilişkili periodontitis:

A. Kombine Periodontal-Endodontik lezyonlar

VIII. Gelişimsel veya kazanılmış deformite ve durumlar:

A. Plağa bağlı dişeti hastalıklarına/periodontitise yatkınlığı arttıran veya değiştiren lokalize dişe bağlı faktörler

B. Dişin etrafındaki mukogingival bozukluklar ve durumlar

C. Dişsiz kretlerdeki mukogingival bozukluklar ve durumlar

D. Oklüzal travma

2.2.1. Plağa Bağlı Gingivitis

Plağa bağlı gingivitis, dişeti kenarında plak birikimi sonucunda meydana gelen iltihabi bir hastalıktır. Dişeti kenarında plak varlığı, dişetinde renk ve kontur değişimi, dişeti oluşunda ısı değişimi, dişeti iltihabının artması, provakasyonda kanama, ataşman kaybının ve kemik yıkımının olmaması, dişetinde histopatolojik değişikliklerin olması ve plağın uzaklaştırılması ile hastalığın geri dönüşümlü olması gibi özelliklere sahiptir (Armitage, 1999; Mariotti, 1999; Tatakis ve Trombelli, 2004). Bu klinik belirtiler ve semptomların şiddeti, bireyler arasında ve aynı bireyde çeşitli bölgeler arasında değişebilir. Plağa bağlı gingivitisteki histopatolojik değişiklikler; epitel tabakada hücre proliferasyonu, bağlantı epiteline komşu kan damarlarında vaskülit, kollojen tiplerindeki değişikliklerle birlikte kollajen lif ağında yıkım, fibroblastların sitopatolojik değişimi ve ilerleyici iltihabi infiltrattır (Tatakis ve Trombelli, 2004). İltihabi dişeti dokusunun gözle değerlendirilen belirtileri bu histopatolojik doku değişiklikleri ile uyumludur (Endelberger ve ark., 1983). Mikrobiyal dental plağın gingivitis sebebi olduğunun 1960'larda Löe ve arkadaşları (Löe ve ark., 1965) tarafından kesin olarak doğrulanmasından sonra, gingivitis gelişiminde plağın etiyolojik rolü çeşitli araştırmacılar tarafından desteklenmiştir. Mekanik yollarla ya da kimyasal antimikrobiyal ajanların

kullanılması ile plağın azaltılması veya ortadan kaldırılması, hastalığın gerilemesine sebep olur (Bosman ve Powell, 1977; Tatakis ve Trombelli, 2004). Bireyler arasında gingivitise yatkınlığı, plağın birikme oranını etkileyen lokal faktörler ve dental plağın mikrobiyal içeriğindeki farklılıklar da etkiler. Bununla birlikte plağa bağlı gingivitis oluşumunu sistemik pek çok faktör etkileyebilir (Tatakis ve Trombelli, 2004). Armitage tarafından 1999 yılında yapılan periodontal hastalıkların en son sınıflandırması, plağa bağlı gingivitisin sistemik faktörler tarafından etkilendiğini göstermektedir. Bu sistemik faktörler; metabolik, genetik, çevresel ve diğer faktörler olarak gruplandırılabilir. Plağa bağlı gingivitis etkileyen metabolik faktörler arasında hamilelik, puberte, diyabet ve menstruasyon yer alırken, Down Sendromu ve Papillon-Lefevre sendromu en çok incelenen genetik faktörlerdir (Reuland-Bosma ve van Dijk, 1986). Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalar, spesifik IL-1 (İnterlökin-1) genotipinin deneysel gingivitise yatkınlığı artırdığını göstermektedir (Shapira ve ark., 2005). Sigara kullanımı gingivitis oluşumunu etkileyen ve en iyi bilinen çevresel faktördür. Bununla beraber vitamin C eksikliği gibi beslenme problemleri, antibiyotikler, kalsiyum kanal blokerleri, kortikosteroidler, siklosporin, NSAID (Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaç) lar ve fenitoin gibi ilaçlar da gingival iltihabi cevabı etkileyebilmektedir (Tatakis ve Trombelli, 2004). Tüm bunlara ilaveten immün yetersizlik, lösemi, AIDS (Edinilmiş İmmün Yetmezlik Sendromu) (Hofer ve ark., 1996) ve fiziksel stres durumları gingivitis oluşumunu etkileyen diğer faktörler olarak gruplandırılabilirler (Özmeriç, 2004; Tatakis ve Trombelli, 2004).

2.2.2. Kronik Periodontitis

Kronik periodontitis; gingivitis ile başlayan ve tedavi edilmediği takdirde hastalığın ilerlemesi sonucu ataşman ve kemik kaybıyla karakterize kronik iltihabi bir hastalıktır (Fleming, 1999). Her kronik periodontitisin öncesinde gingivitisin varlığı zorunlu olmakla beraber, her gingivitis vakası uzun yıllar tedavi edilmemiş olsa bile kronik periodontitis ile sonuçlanmaz. Kronik periodontitis klinik olarak; dişetinde renk değişikliği, “stipling” yapının kaybolması, keskin olmayan yuvarlak hatlı dişeti kenarı ile dikkati çeker. Bununla beraber, spontan veya kolayca başlatılabilen dişeti kanaması sıklıkla görülür (Fleming, 1999). Çeşitli derinliklerde ceplere rastlanılır ve hem yatay hem de dikey yönde kemik kaybı gözlenir. Kemik kaybının aşırı olduğu ilerlemiş

vakalarda sıklıkla mobilite vardır. Kronik periodontitis genellikle ağrısızdır. Bazen açığa çıkmış kök yüzeyinin sıcağa veya soğuğa karşı hassas olması veya çürük gözlenmesiyle ağrı şikâyetleri olabilir. Lokalize künt ve bazen de çeneye yayılan bir ağrı mevcuttur. Dişetinde ödem ve kaşıntı hissi vardır. Akut ağrı periodontal apsenin görülmesi ile ortaya çıkar. Periodontal cep varlığı ve dişeti kenarında kronik iltihabi değişikliklerle karakterizedir. Bu klinik bulgular kemik kaybının varlığı ile orantılı bir şekilde radyografik olarak da tespit edilebilir. Kronik periodontitis, etkilediği bölgenin büyüklüğüne bağlı olarak lokalize ve generalize olmak üzere iki grupta tanımlanır. Etkilenmiş dişlerin sayısı tüm dişlere oranla $< \%30$ ise lokalize, $> \%30$ ise generalize'dir. Ancak bazı bölgeler diğer bölgelere nispetle daha fazla etkilenebilir (Fleming, 1999). Örneğin plak kontrolünün güç olduğu bölgelerde hastalığın şiddeti artar. Hastalık genellikle generalize seyirlidir. Lokalize ve generalize tipleri kendi içinde üç alt gruba ayrılır; klinik ataçman kaybı 1-2 mm arasında ise hafif, 3-4 mm arasında ise orta, 5 mm'den fazla ise şiddetli olarak isimlendirilir. Kronik periodontitisin ana etkeninin mikrobiyal dental biyofilm olduğu bilinmektedir (Monteiro ve ark., 1996; Flemmig, 1999; Adriaens ve ark., 2004). Mikrobiyal dental plağın kalitatif ve kantitatif yapısı kötü ağız hijyeni ile yakından ilişkilidir. Bakteriyel virülans faktörleri direkt olarak konak dokularının yıkımına sebep olabildikleri gibi, konak dokudan yıkıma sebep olan biyolojik mediyatörlerin salınımına da yol açabilirler. Konak cevabının bir parçası olarak üretilen ve doku yıkımına katkıda bulunan mediyatörler; proteinazlar, sitokinler ve prostoglandinlerdir (Hernández, 2011). Bununla beraber çoğu kronik iltihabi hastalık gibi, bu hastalığında 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 retansiyonunu neden olan lokal etkenler de önem arz eder. Sistemik faktörlerden diyabet üzerinde durulurken, çevresel faktörlerden sigara kullanımına dikkat çekilmiştir. Ayrıca genetik faktörlerin önemi üzerinde de durulmuştur (da Silva ve ark., 1995; Monteiro ve ark., 1996; Vettore ve ark., 2003). Kronik periodontitis her yaşta görülebilir ancak; ilk bulguları sıklıkla adolesan çağda gözlenir. Kronik periodontitisin ilerleme hızı oldukça değişkenlik göstermesine rağmen hastalık genellikle yavaş seyirlidir. 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. Konakçı savunma faktörleri de hastalığın şiddetinde önemli bir rol oynar. Dişeti dokusundaki mikroorganizmalar ile konak savunma mekanizması arasında her zaman bir denge mevcuttur (Lamster, 1997). Bu denge mikroorganizmalar lehine bozulacak olursa, yavaş seyirli olan hastalık şiddetlenerek daha fazla kemik yıkımına ve nihayetinde diş kaybına sebep olur (Monteiro ve ark., 1996; Flemming, 1999; Adriaens ve ark., 2004). Kronik periodontitis ve plağa bağlı gingivitis gibi periodonsiyumun iltihabi rahatsızlıklarında gözlenen bir diğer önemli değişim ise biyolojik sınırlarla ilişkilidir. Özellikle oral biyolojik sıvılar olarak bilinen DOS ve tükürüğün miktarı veya içeriğinde önemli değişiklikler meydana geldiği vurgulanmıştır (Lamster, 1997; Giannobile ve ark., 2003; Özmeriç, 2004). Bu nedenle mevcut periodontal durumun tespit edilmesinde DOS ve tükürüğün biyokimyasal analizi faydalı olabilir.

2.3. Periimplant Hastalıklar

Periimplant hastalıkların sınıflaması, patobiyojilerinin genellikle periodontal hastalıkları taklit etmesi nedeniyle bu hastalıklara benzer bir şekilde yapılmaktadır. Altıncı Avrupa Periodontoloji Çalıştayı'nda periimplant hastalıkların tanımı sırasıyla; destek kemik kaybı gözlenmeden implant çevresi mukozada var olan periimplant mukozitis ve mevcut mukozal enflamasyona ek olarak destek kemik kaybı da gözlenen periimplantitis şeklinde yapılmaktadır (Lindhe ve Meyle, 2008).

2.3.1. Periimplant Mukozitis

İmplant çevresindeki yumuşak dokuların herhangi bir kemik kaybı olmadan geri dönüşümlü enflamatuvar değişikliği olarak tanımlanmıştır (Albrektsson ve ark., 1994). Tonetti ve ark. çeşitli birey gruplarında klinik olarak sağlıklı diş ve implantlardan alınan biyopsileri karşılaştırmışlar ve B-hücreleri ile PMNL (Polimorf Nükleer Lökosit) yoğunluğunun periimplant mukozada gingival lezyondakinden daha fazla olduğunu bulmuşlardır (1995). Liljenberg ve ark. ise tam aksini iddia ederek gingival lezyonun, periimplant mukozaya oranla daha çok miktarda B-hücreleri ve PMNL ihtiva ettiğini öne sürmüşlerdir (1997).

2.3.2. Periimplantitis

Periimplantitis, ileri dönemlerde görülen en yaygın implant kayıp nedenlerinden biridir. Plak akümüasyonu ile alveolar kemik kaybı arasındaki ilişki hem klinik (Berglundh ve ark.,1994; Schwarz ve ark., 2007) hem de deneysel (Sennerby ve ark., 1988; Becker ve ark., 1990; Trejo ve ark.,2006) çalışmalarda gösterilmektedir. Tonetti ve Schmid'in rapor ettikleri gibi, periimplant mukozitis kemik yıkımı olmaksızın implantın etrafındaki mukozada inflamasyon olarak tanımlanmaktayken, periimplantitis dental implantın etrafındaki kemik yıkımı ile birlikte izlenen enflamasyon durumudur (1994). Yapılan çalışmalarda daha önce periodontitisi olan hastalarda ileri dönemlerde periimplantitis görülme olasılığı daha fazla olmakla birlikte, periimplantistide görülen etken mikroorganizma türleri periodontistteki ile benzerlik göstermektedir. İlk yılda dental implantın etrafında görülen marjinal alveolar kemik yıkımı anaerobik bakterilerin bulunması ile birlikte artsa da kemik yıkımının ana sebeplerinden değildir. Çünkü ilerleyen yıllarda marjinal alveolar kemik yıkımı miktarı ciddi bir şekilde azalmaktadır (Oh ve ark., 2002).

2.4. Periodontal Hastalıkların Patogenezi

Ağız boşluğu tüm vücuttaki antijenlere açık en geniş bölgelerden biridir. Yabancı antijenlerin yanı sıra, ağız boşluğunun devamlı ve potansiyel patojen florası da vücudun hastalık ve sağlığında önemli bir rol oynamaktadır (Lamster, 1992).

Ağız boşluğundaki savunma sistemleri 3 grupta incelenebilir:

- a) Mukoza-epitel bariyeri, tükürük, dişeti oluşu sıvısı, bakteriler arası antagonizm,
- b) Hücrel immünite ve
- c) Hümorale immünite (Lamster, 1992).

Epitel, altındaki dokulara koruma sağlayan mekanik bir bariyer olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda mukozal epitelin konak çevresindeki mikrobiyal patojenleri tanıma ve bunlara cevap vermedeki iletişim ağında dinamik bir rolünün olduğu belirtilmiştir. Mukoza epitelinin komşu bakteriyel topluluğunun bir algılayıcısı olduğu ve altında bulunan dokulara enflamatuvar ve immün cevabın oluşması için uyarılar gönderdiği bilinmektedir. Böylece bu uyarı yollama işleminin konak savunması

için esas olan konak sistemlerini aktive ettiği görülmektedir (Kimball ve ark., 2006). Periodontal hastalıklar çoğunlukla mikroorganizmalara bağlı gelişen hastalıklardır ve mikroorganizmalara bağlı gelişen doku yıkımı direkt ve indirekt mekanizmalarla gerçekleşmektedir (Hernandez ve ark., 2011). Direkt mekanizmaya bağlı doku yıkımı bakteriyel enzimler, toksinler gibi bakteriye bağlı virülans faktörlerince oluşturulmaktadır. İndirekt mekanizmaya bağlı doku yıkımı bakterilere karşı gelişen konak cevabına bağlı meydana gelmektedir (Hernandez ve ark., 2011). Konak cevabı mikroorganizmalara karşı gelişen bir tepkidir ve akut iltihabi hücreler (nötrofil) ile adaptif hücrelerin (monosit/makrofaj ve lenfosit) iyi organize olmuş aktiviteleri olarak nitelenebilir. Adaptif immün yanıt epiteliyal değişiklikler, anjiyogenez, yumuşak ve sert dokunun tekrar şekillenmesi gibi aşamaları da içerir. Tekrar şekillenme işlemi yapım ve yıkım aşamalarından oluşur. Yıkım yapımdan hızlı ise veya yapım yetersiz ise sonuçta periodontal dokularda kayıp gözlenir (Martinez ve ark., 2009).

Nötrofiller adaptif immün cevabı düzenleyen akut iltihabi hücrelerdir. Fagositoz yoluyla antimikrobiyal fonksiyonlarını yerine getirirler, doku yıkıcı enzimleri ortama salarak da lokal doku değişikliklerine neden olurlar. Kronik iltihabi hücreler (monosit/makrofaj ve lenfosit) hem periodontal enfeksiyona bağlı hem de periodontal tamir ve iyileşmeye bağlı doku değişikliklerini düzenlerler. Aynı zamanda antijenlere karşı spesifik opsonik antikorlar üreterek nötrofillerin periodontal enfeksiyonu kontrol altında tutmasına yardımcı olurlar (Silva, 2010).

Monosit, makrofaj ve nötrofil gibi özgün olmayan immün yanıt hücreleri bakteriler tarafından meydana getirilen enfeksiyona karşı konağı korurlar. Bu immün yanıt bakterilere ve yabancı cisimlere dokunun verdiği ilk cevaptır. Özgün immün yanıt ise lenfoid hücrelerin antijeni tanıması ve bu antijene özel cevabın oluşmasıdır (Dennison ve ark., 1997). Özgün olmayan immün yanıt konağın patojenlerle tekrarlayan karşılaşmalarında adapte olmaz. Tek bir patojene karşı değil farklı patojenlere karşı reaksiyon geliştiren kalıtsal olarak antimikrobiyal protein ve peptidleri işleme koyan monosit, makrofaj ve nötrofillerin de içinde yer aldığı konak cevabıdır. Doğuştan itibaren var olan bu doğal immünite, enfeksiyon ajanlarına karşı savunmanın ilk önemli hattını oluşturmaktadır ve daha önceden karşılaşılan patojenler sonucunda gelişmez ve hafızaya sahip değildir. Doğal bağışıklık hızlı olma avantajına karşın özgünlükten yoksundur ve konağın zararına işleyebilir (Kinane ve ark., 2001).

Özgün immün yanıt etken patojenlere karşı konakta gelişen bir cevap olduğu için daha etkilidir. T ve B lenfositler kazanılmış immün yanıtta önemli bir role sahiptir. T ve B lenfositlerin bu rollerinin; patojen üzerindeki spesifik oligometrik yapıları fark etmeleri ve aynı patojenle tekrar karşılaşıldığında immün sistemin daha hızlı ve etkin bir cevap vermesini sağlayan reseptörler geliştirmeleri olduğu görülmektedir (Behl ve ark., 2008).

Enflamasyonun başlaması ile damarsal değişiklikler ve kompleman sistem aktivasyonu gerçekleşir ve aktive olan kompleman sistem birer anaflatoksin olan C3a (Kompleman 3a) ve C5a (Kompleman 5a)'yı üretir. Anaflatoksinler lökositlerin ve mast hücrelerinin degranüle olmasını sağlayarak vasküler değişiklikleri dolaylı yoldan tetiklerler. Enflamasyon ilerledikçe dişeti bağ dokusundaki degranüle mast hücresi sayısı artar. Mast hücreleri uyarıldıkları zaman TNF- α (Tümör Nekroz Faktörü-alfa), TGF- β (Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta), IL-4 (İnterlökin-4) ve IL-6 (İnterlökin-6)'yı yapısal olarak kopyalarlar. IL-1, IL-6, interferon ve diğer sitokinlerin kopyalanmasını indüklerler. C5a, IL-1 β (İnterlökin-1beta), TNF- α ve bakteriyel LPS tarafından uyarılan endotelial hücrelerinden ortama selektinler ve kemokinler salınır. Bu işlem lökositlerin transendotelial migrasyonu için çok önemlidir (Barrington ve ark., 2001). Aktif periodontal yıkımın konak savunmasının aşırı ve yetersiz oluşu, virülans özellikleri güçlü patojen bakterilerin ortamda bulunması gibi faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıktığı düşünülmektedir. Periodontal sağlık ile hastalık arasındaki ilişki lokal ve sistemik faktörler tarafından etkilenebilir (Smalley, 1994).

Gingivitis ve periodontitiste meydana gelen doku yıkımı konağın mikroorganizmalara, mikroorganizmaların yapısal ve metabolik ürünlerine ve konağın kendi hasarlı dokularına verdiği enflamatuvar cevaba bağlı gelişir. Bu duruma çoğunlukla kompleman sistemi arabuluculuk eder. Kompleman sistemi gerek antijen-antikor kompleksleriyle klasik yoldan, gerekse hümmoral cevabın yokluğunda LPS, LTA (lipoteikoik Asit) ve peptidoglikan gibi mikrobiyal yapısal materyallere karşı alternatif yoldan aktive olur. Kompleman sisteminin aktive olması vazoaktif ve kemotaktik yapıların oluşumuyla sonuçlanır. Fagositlerin ortama gelmesiyle çeşitli mekanizmalarla doku yıkımı gerçekleşir (Smalley, 1994).

Bakterilerce veya kompleman sistemi tarafından stimüle edilen makrofajlar IL-1, TNF ve nötrofil kemotaktik faktör'ü (IL-8 (İnterlökin-8)) ortama salarlar. Bu kombine etki nötrofillerin damarlardan bölgeye migre olmasını sağlar. Nötrofil migrasyonunun; makrofaj kaynaklı IL-8, kompleman sisteminin ürünü olan C5a ve bakteriyel kaynaklı peptidlere bağlı geliştiği düşünülmektedir. Nötrofillerden salınan kollajenaz, elastaz, katepsin G, reaktif oksijen türleri ve plazmin gibi lizozomal granül içeriği lokal doku yıkımlarına neden olur (Smalley, 1994).

Makrofajlar antijenlere ve mikroorganizmalarla ilişkili diğer ajanlara karşı sitokin salgılar. Bu sitokinler özgün immün ve enflamatuvar yanıtı güçlendirir ve doku yıkımını stimüle eder. Doku yıkımı makrofajlardan salgılanan sitokinlerce direkt olarak meydana gelebileceği gibi dolaylı yoldan fibroblast gibi hücrelerden doku yıkıcı enzimlerin salgılanmasını tetikleyerek de meydana gelir. Buna ek olarak makrofajlar IL-1 β ve PGE-₂ (Prostoglandin-E₂) gibi sitokinleri salgılar ve osteoklastları uyararak kemik yıkımında rol oynarlar (Dennison ve ark., 1997).

Nötrofiller periodontal lezyonlarda savunma görevinde olsalar da bu hücreler aynı zamanda immünopatolojinin önemli hücrelerindedir. Nötrofillerin bakteriler ile karşılaşması fibroblast, endotel hücreleri ve keratinosit gibi çok önemli hücrelere zarar verir. Nötrofiller doku yıkım proteazlarını da içeren lizozomal enzimleri sentezlerler ve ortama salarlar. Doku yıkıcı enzimlerin, kemik rezorbe eden lipidlerin ve diğer enflamatuvar mediyatörlerin varlığı enflamatuvar cevabın oluşumuna ve ataşman kaybına neden olur (Schenkein, 2006). Agresif periodontitiste meydana gelen doku yıkımının önemli bir kısmından nötrofillerin hiperaktivitesinin sorumlu olduğu düşünülmektedir (Kantarci ve ark., 2003).

Genel olarak periodontal hastalıklardaki doku yıkım mekanizması kısaca şu şekilde özetlenebilir: mikrobiyal antijenler ve virülans faktörleri konakta hızlı bir enflamatuvar ve immün cevabın oluşmasına neden olur. Konak mikrobiyal ürünlere karşı sitokinler, kininler, MMP (Matriks Metalloproteinaz)'ler üreterek ve kompleman sistemini aktive ederek cevap verir. Bu iltihabi mediyatörlerin bir kısmı periodontal dokuların yıkımında yer alır. Mikroorganizmalar konak savunma sisteminin çeşitli komponentlerini dolaylı yoldan aktive ederek de periodontal doku yıkımına neden olurlar (Ishikawa, 2007).

2.5. DOS ve POS'un Önemi

DOS farklı hastalık tiplerindeki salınımı ve içerdiği bileşenlerle periodontal hastalık gelişimi ile ilgili önemli bilgiler veren bir sıvı olup aynı zamanda konak savunma mekanizmasının basamağını da oluşturmaktadır (Giannopoulou ve ark., 2003; Uitto ve ark., 2003). Deskuame epitel hücreleri ve migrasyon gösteren lökositler bu sıvının hücresel elementleridir. Sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum gibi elektrolitler ve iyonlar da sıvı içeriğinde önemli yer tutmaktadır. Organik bileşikler ise proteinler ve karbonhidratlardır. Metabolik ve bakteriyel ürünler ise laktik asit, üre, endotoksinler, sitotoksik maddeler, antibakteriyel faktörler ve enzimlerdir. Birçok litik ve enzim aktivite düzeylerinin periodontal yıkım varlığında DOS'nda artış olduğu ve periodontal tedavi aşamalarında düşüş olduğu görülmüştür. Bu enzimler arasında en önemlileri olarak kollajenazlar, elastaz, asit ve alkalin fosfataz, aspartat aminotransferaz, laktat dehidrogenaz, myeloperoksidaz sayılabilir. DOS esas olarak serum kaynaklı olsa da dişeti oluşuna seyrederken, enflamatuvar değişimlerin neredeyse tüm özelliklerini yansıtabilecek bir değişime uğramaktadır (Lamster, 1997). Bu özelliklerinden dolayı DOS içeriği ve özellikle enzimatik içeriğin saptanmasının periodontal hastalık aktivitesinin izlenmesinde yararlı ve güvenilir olduğu kabul edilmektedir. DOS'da yer alan doku ve bakteri kaynaklı yıkım enzimlerinin incelenmesi aktif periodontal yıkımın olduğu evreleri tespit edebilmesini de mümkün kılmaktadır (Marakoğlu ve ark., 2002).

POS, DOS'a enflamatuvar hücre ve mikroflora içeriği ve görevi yönünden benzerlik göstermektedir (Mombelli ve ark., 1995). DOS ve POS örnekleri incelenerek dişin veya dental implantın sağlık durumu ile ilgili bilgi edinilebilmektedir. Belirli tedaviler uygulandıktan sonra yine iyileşme safhası ile ilgili bilgi sahibi olmak DOS ve POS örnekleri incelenerek mümkündür. DOS ve POS birçok mediyatör ve pro-enflamatuvar sitokinler içermektedir (Marakoğlu ve ark. 2002). Periimplant dokularda enflamatuvar değişiklikler periimplantitis ve kemik kaybı başlatabilmektedir (Murata ve ark., 2002; Kivela-ramajaki ve ark., 2003). Buradan hareketle, Yalçın ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, periimplant mukozitisi var olan hastalarda gingival indeks ve sondalama derinliği ile periimplant sulkus sıvısındaki PGE₂ seviyesi arasında istatistiksel olarak önemli ilişki bulmuşlardır (2005). Yine Paolantonio ve arkadaşları POS'ta AST (aspartat aminotransferaz) aktivitesi değerlerini sağlıklı, periimplant

mukositis ve periimplantitis hastalarında değerlendirmişler ve hastalıklı durumlarda arttığını bildirmişlerdir (2000).

2.6. Trigeminal Sinir Anatomisi

Trigeminal sinir V. kafa çiftidir.

Sinirin üç duyuusal ve bir motor çekirdeği bulunur (Kamel ve ark., 2001).

1. Mezensefalik çekirdek (mezensefalon)
2. Esas duyuusal çekirdek (pons)
3. Motor çekirdek (pons)
4. Spinal çekirdek (bulbus)

Mezensefalik çekirdeğin afferent lifleri dış, sert damak ve temporomandibular eklemden kalkan proprioseptif impulsları taşır. Mezensefalik çekirdek ile ponstaki motor çekirdek arasındaki yol ısırma-çiğneme refleksi kontrol eder. Ponstaki motor çekirdek trigeminal sinirin inerve ettiği kasların motor hareketlerinden ve koordinasyonundan sorumludur (Kamel ve ark., 2001). Spinal çekirdek, ponsdaki duyuusal çekirdekten bulbustaki duyu çekirdeğine ve üst servikal omuriliğin içine kadar uzanır. Ağrı-ısı duyunu değerlendirir (Kamel ve ark., 2001). Pons'a birkaç milimetre uzaklıkta sinir kökü girişi olarak bilinen bölge, santral sinir kökünden periferik miyeline geçişi temsil eder. Sinirde somatotropik olarak V₁ lifleri superior, V₃ lifleri ise inferiorde organize edilmiştir. Trigeminal ganglion petroz apekte, Meckel boşluğu içinde yer alır. Meckel, içinde BOS (Beyin Omurilik Sıvısı) bulunan araknoidal bir boşluktur. Meckel boşluğunda gasser (semilunar) ganglionuna inferomedial olarak internal karotid arter komşuluk eder. Ganglionun inferiorunda ise trigeminal sinirin motor kökü seyrederek (Kamel ve ark., 2001). Trigeminal sinir, trigeminal gangliondan sonra 3 dala ayrılır: Bunlar oftalmik (V₁-duyu), maksiller (V₂-duyu) ve mandibuler (V₃-duyu+motor) sinirlerdir (Kamel ve ark., 2001).

Oftalmik sinir (V₁): Kavernöz sinüs ve fissura orbitalis superiorundan orbitaya girer. Daha sonra göz küresi, lakrimal bezler, konjunktiva, nazal mukozanın bir bölümü, burun yüzeyi, göz kapakları ve alına dağılarak bu bölgelerin duyu innervasyonunu sağlar (Kamel ve ark., 2001).

Maksiller sinir (V₂): Sfenoidal kemikteki Foramen Rotundum'dan kafatasını terk eder. Daha sonra, birkaç dala ayrılacağı yer olan Pterygopalatin Fossaya girer. Ana gövdesi, orbital zemine anterior olarak ilerler ve üst dişler ile yüzün orta 1/3'ünü inerve etmek üzere infraorbital sinir olarak çıkar (Kamel ve ark., 2001).

Mandibular sinir (V₃): Gasser ganglionundan sonra kafa kaidesi boyunca ilerler ve Foramen Ovale'den kafatasını terk eder. Yüzün alt 1/3'ü, dil, ağız mukozası ve çenedeki duyu iletimini sağlamak üzere birkaç duysal dala ayrılır. Mandibular sinirin motor kökü, çiğneme kasları (pterygoideus medialis, pterigoideus lateralis, temporalis, masseter), mylohyoid kas, digastrik kasın anterior karnı, timpanik membranın tensor kası ve tensor veli palatini kasını inerve eder (Kamel ve ark., 2001).

2.6.1 Oral İnnervasyon

Oral bölgenin sensör uyarıları maksiller ve mandibular dallar tarafından gangliyon trigeminale yoluyla beyin sapına taşınır ve sensör-feedback yolunun önemli bir parçası olup çene hareketlerinin uyumlu çalışmasında rol oynar.

Afferent sinyaller trigeminal sinir ana sensör çekirdeği (dokunma duyusu) ya da aşağı spinal traktus çekidekleri olan:

- 1) nervus Oralıs (oral mukozanın kutanöz algısı)
- 2) nervus İnterpolarıs (pulpa ağrısı)
- 3) nervus Caudalis (ağrı, ısı ve kuvvetli dokunma algıları) tarafından taşımaktadır. Buradan sinyaller çapraz yaparak orta hattın diğer tarafındaki talamusa ulaşırlar ve talamokortikal uzantılar ile orofasiyal duyu ile ilgili kortikal alana giderek burada bilinçli algı oluştururlar.

Bizim alanımız olan periodontal dokular, özellikle dişeti ve periodontal ligament bu ana dalların uzantıları olan basınç, ağrı ve dokunma (taktil) duyularını algılayan mekanoreseptör ve nosiseptör sinir uçları ile donatılmıştır. Çeşitli sensör reseptör tiplerine ek olarak, bu sinir komponentlerinin periodonsiyum kan damarlarını da inerve ettiği bulunmuştur. Ağrı, dokunma, basınç duyularını algılayan sinirlerin başlangıç noktası semilunar gangliyon olup periodonsiyuma trigeminal sinir ve dalları tarafından taşınırlar (Lindhe ve ark., 2008). Periodontal ligamentte bu reseptörlerin bulunmasına bağlı olarak dişler üzerine uygulanan düşük kuvvetler bile

algılanabilmektedir. Örneğin dişler arasına konulan çok ince (10-30 µm) metal stripler oklüzyon esnasında tanımlanabilmektedir (Jacobs ve ark., 1992). Ayrıca iyi bilinmektedir ki, çiğneme esnasında alt ve üst dişlerin oklüzal yüzeyleri arasında sert bir nesne olduğu fark edildiğinde refleks olarak ağızda bir açılma hareketi gözlenir. Bu nedenle periodontal ligamentteki reseptörler, kas ve tendonlardaki proprioseptörler ile birlikte çiğneme kuvvetleri ve çiğneme hareketlerinin düzenlenmesinde çok önemli role sahiptir (Trulsson, 2006).

2.6.2. Periodonsiyumun Sinir Ağı

Vücudun diğer dokuları gibi periodonsiyum da ağrı, dokunma ve basınç reseptörleri içerir. Duyusal reseptörlerine ek olarak, sinir komponentlerinin periodonsiyumun kan damarlarını innerve ettiği bulunmuştur. Ağrı, dokunma ve baskıyı kaydeden sinirlerin merkezi semi-lunar gangliyon olup, periodonsiyuma trigeminal sinir ve onun uç dalları ile ulaşır. Periodontal ligamentteki reseptörlerin varlığı diş üzerine uygulanan küçük kuvvetlerin tanımlanabilmesini sağlar. Bilindiği üzere mandibular ve maksiller dişlerin oklüzal yüzeylerini kantağa getiren hareket, çiğneme esnasında sert bir cisim algılandığında ani bir ağız açma refleksini ortaya koyar. Bu bilgilerden yola çıkarak çiğneme hareketlerinin ve çiğneme kuvvetlerinin düzenlenmesinde periodontal reseptörlerin ve kas ve tendonlardaki proprioseptörler ile birlikte önemli rol oynadıkları söylenebilir (Lindhe ve ark., 2008).

Maksiller kesicilerin, kaninlerin ve premolarların labialinde yer alan dişeti nervus infraorbitalisin superior labiyal dalları ile innerve olur. Maksiller molar bölgedeki bukkal dişeti ise inervasyonunu posterior superior dental sinirin dallarından alır. Palatinal mukoza inervasyonunu nervus palatinus majustan alır. Palatinal insizör bölgesindeki dişeti istisnai olarak inervasyonunu nervus pterygopalatiniden alır. Alt çenenin lingual dişeti inervasyonunu lingual sinirin bir uç dalı olan sublingual sinirden alır. Alt çenede kesici ve kaninlerin labial taraflarındaki dişeti inervasyonunu mental sinirden, molarların bukkalindeki dişeti ise nervus buccalisten alır. Premolarlar bölgesinde ise bu iki sinirin kombinasyonu şeklinde inervasyon olur. Alt çene dişlerinin periodontal ligamenti inervasyonunu nervus alveolaris inferiordan alırken, üst çenedekiler inervasyonunu nervus alveolaris superiordan alır. (Lindhe ve ark., 2008).

Periodonsyumun küçük sinirleri kan damarlarıyla aynı yolu izlerler. Sinirler serbest dişetine kadar izledikleri yolda superficial dokudan periosta oradanda dallar vererek oral epitele kadar bir çok bölgeden geçerler. Periodantal ligamente gelen sinirler volkmann kanalı denilen soket duvarındaki deliklerden geçerler. Periodantal ligamentte sinirler birleşerek dişin uzun aksına paralel demetler oluştururlar.(Lindhe ve ark., 2008)

2.6.3. Periodotal İnnervasyon

Periodantal reseptörler gingiva, çene kemiği, periost ve periodantal ligamentte bulunur. Reseptörlerin çoğu mekanoreseptif özellikte olup sofistike taktıl fonksiyonunda etkilidir. Bu taktıl bilgi primer olarak koruma amaçlı olmayıp, insan beyinde oral motor faaliyetlerin, ısırma ve çiğneme olaylarındaki harmoninin algılanıp, dengelemesinde görevlidirler (Trulsson, 2006). Periodantal ligament mekanoreseptif fonksiyon açısından dominant role sahiptir. 3 çeşit sinir sonlanması ihtiva eder: serbest sinir sonlanması, ruffini benzeri sonlanma ve lamelli korpüsküller (Lambrichts ve ark., 1992).

Serbest sinir uçları hem miyelinli hem de miyelinsiz sinir fiberlerinden köken alır. Lamelli korpüsküller ise birbiri ile yakın temasta bulunurlar fakat yine de en mekanoreseptif sonlanma periodantal ligamentin apikal kısmında bulunan ruffini benzeri sonlanmalardır. Morfolojik çalışmalar bu sinir sonlanmalarının çevre dokuların kollajen fibrilleri ile yakın temasta olduklarını göstermiştir (Lambrichts ve ark., 1992). Bu önemli ilişki diş üzerine yapılan yüklemdeki yüksek hassasiyetlerini açıklamaktadır. Bu da periodantal taktıl fonksiyonu için düşük eşik değeri olarak sonuçlanmakta ve birçok klinik fenomenle ilgili karmaşık sensör aparatın da temelini oluşturduğu düşünülmektedir.

Periodantal ligamentin mekanoreseptif fonksiyonu, ona anterior dişler arasında gıdanın ısırılması veya manipülasyonu, posterior dişler arasında çiğneme esnasında gerçekleşen mekanik olayları beyne farklı sinyallerle gönderme olanağı sunmaktadır (Trulsson 2006). Bu ayrıntılı bilgilendirme mekanizması beynin spesifik mekanik olayları analiz ederek optimum çiğneme sekansı oluşturması için düzen kurmasını amaçlamaktadır (Trulsson 2006). Bu önemli rolü düşünüldüğünde aşikârdır ki, periodantal ligament zarar gördüğünde bir kısım sensör-motor ilişkide azalma veya

tamamen kaybolma gözlenecektir. Dişler çekildiğinde periodontal ligament reseptörleri de yok olacağından taktıl fonksiyonu engellenmiş olacaktır.

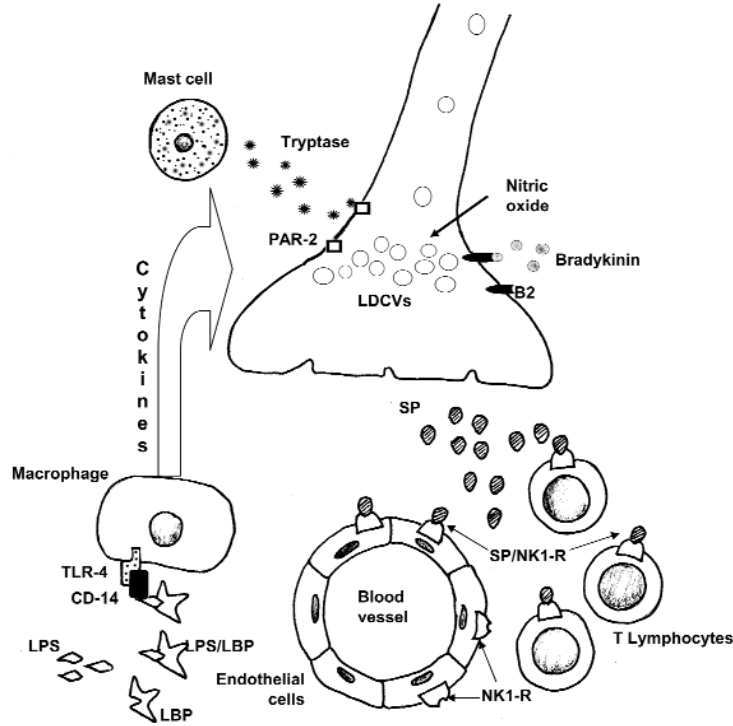
Haraldson implant destekli sabit proteze sahip hastalarda tüm çiğneme sekansı boyunca benzer kas aktivitesini tarif etmiştir (1983). Bu bulgu tüketilen gıdanın özelliklerine göre çiğneme paterninde değişiklikler gösteren doğal dişlere sahip bireylerle ters düşmektedir.

2.6.4. Duyusal Sinirlerin Aktivasyonu

Gingival ve periodontal dokuların duyusal sinirlerin nörojenik inflamasyona neden oluşu henüz bütünüyle açıklanamamıştır. Periodonsiyumdaki duyusal fibrillerin alt sınıflarını özgün görevlere ayırmak oldukça zordur. Çünkü, duyusal sinirler yüksek plastisite gösterdiğinden nörokimyasal değişikliklere sebep olurlar ve özelleşmiş mikro-çevresel koruyucuları mevcuttur veya savunma rolünde fenotipik değişim sergilerler. Duyusal fibrillerin alt sınıflarının kesin rolleri açıklanmamış olmasına rağmen, bu sinirleri aktive eden kimyasallar ve durumlar bilinmekte (Şekil 1), dolayısıyla nörotransmitter salınımının da düzenlenebileceği bilinmektedir (Young ve ark., 1997).

Kapsaisin, ısı, proton, bradikinin, triptaz gibi birçok maddenin duyusal nöronları aktive ettiği rapor edilmiştir. Tüm vakalarda, zararlı uyarılar duyusal sinir terminal ucundan salınımını tetiklemesine rağmen kesin mekanizma değişken olup, uyarana bağlı şekilde değişmektedir. Kapsaisin, ısı ve proton VR₁ (Vanilloid Reseptör-1) aktive ederek ligand-kapı katyon kanallarının açılmasına sebep olur ve kalsiyumun duyusal sinir hücrelerine girmesine izin verir (Caterina ve ark. 1997). Sonuçta oluşan depolarizasyon voltaj-kapı kalsiyum kanallarını aktive ederek daha fazla Ca⁺⁺² (Kalsiyum İyonu) girişine izin verir. VR (Vanilloid Reseptör) ailesi, VR₁ ve diğer bağlantılı proteinler oluşmakta olup, iyon kanallarının TRPV (Transient Reseptör Potansiyel Vanilloid) ailesinin 1 alt grubunu oluştururlar. TRPV ailesi için, VR₁ kapsaisin vanilloid tarafından aktive edilen tek kanal olması yönüyle diğerlerinden ayrılır (Gunthorpe ve ark. 2002). Enflamatuvar bağırsak hastalığında VR₁'in yüksek oranda bulunması, hastalığın kronik doğasında bu reseptörün rolünü desteklemektedir (Yiangou ve ark., 2001). Aksine, bradikinin ve prostoglandin gibi bazı enflamatuvar mediatörler duyusal sinir üzerindeki B₂ reseptörüne bağlanır, böylece fosfolipaz C aktive olur ve hücre içi depolardan kalsiyum salınarak, nöropeptit eksositozu

tetiklenmiş olur. Pro-enflamatuvar PGE_2 ve PGI_2 (Prostoglandin I_2) duyuşal sinirler üzerinde spesifik reseptöre tutunarak, yangı eőiőini dűőürürler. Son alıőmalar büyük baő hayvanlarda dental pulpadan CGRP salınımının PGE_2 ve bradikinin birbirlerine pozitif yönde etkileri olduğunu göstermiőtir (Goodis ve ark., 2000). Sitokin gibi diğer enflamatuvar mediatörler in vitro olarak direkt nöropeptit salınımına neden olamamalarına rağmen, sitokinler reseptörü duyarlı hale getirebilir; böylece muhtemelen kinaz ve iyon kanal fosforilasyonu ile iliőekli reseptör aracılığı ile kapsaisin miktarındaki artış nöropeptit salgılatır (Opree ve Kress, 2000).



Şekil.1. Duyusal nöronlardan SP salgılanmasında etkili faktörler (Lundy ve Linden, 2004)

PAR (Proteaz-aktivatör reseptörlerin)'lerinin keőfi, enzim kaynaklı duyuşal sinir aktivasyonu mekanizmalarına ve sonraki nöropeptit salınımına ıőık tutmuőtur. PAR' lar özellikle de PAR-2 (Proteaz-Aktivatör Resptörü 2)'nin hastalığın kronik inflamasyonla ilgili dönemlerinde önemli rolü olduğu inancı, bu reseptörler hakkındaki araőtırmaları bu noktaya getirmiştir (Vergnolle, 1999). PAR-2, SP ve CGRP ile birlikte duyuşal sinirlerden salınır ve burada nörojenik enflamasyona sebep olduğu ve ağrı

duyusu rol aldığı düşünülmektedir (Steinhoff ve ark., 2000; Fiorucci ve Distrutti, 2002). PAR'lar, N-terminal uçtan proteolitik yapışma sonrası reseptör aktivasyonu sonucu reseptörlerin tetiklenmesine dayanan değişik bir mekanizmayla karakterizedir. Geriye kalan PAR'ları aktive eden enzimlerin endojen kaynaklarının bulunmasıdır. Çoğunlukla Triptazın mast hücresi degranülasyonu sırasında major proteinlerin salınımıyla meydana gelir ve PAR-2 ye yapışarak bir potansiyel kaynak oluşturabilir. Mast hücreleri ve sinirler arasında kapalı uzaysal bir ilişki bulunmuş, böylece nöronlar üzerindeki PAR-2 aktivasyonu için gerekli olan mast hücre triptazının önemli rolü desteklenmiş ve SP ile CGRP salınımı sonucu nörojenik enflamasyon meydana geldiği düşünülmüştür (Vergnolle ve ark. 2001). Mevcut kanıtlar ışığında, PAR-2 aktivasyonun periodontal hastalıkla ilişkili olarak nörojenik enflamasyonda önemli role sahip olma potansiyeli, özellikle triptaz tarafından aktive edilmesi ihtimali ve triptazın da lokal çevrede bulunması düşünmeye değerdir (Kennett ve ark., 1997). Aslında periapikal granülom içinde bulunan mast hücrelerindeki triptaza komşu bölgelerde SP immünreaktif sinir hücrelerine rastlanmıştır. Bununla birlikte, triptazın endojen inhibitör olduğu konusunda bir bilgi olmamasına rağmen PAR-2 üzerine etkileyerek nörojenik enflamasyonun kronik mediatörü olma potansiyeli gösterdiği bildirilmiştir (Kabashima ve ark., 2002). Enflamasyonun kronik doğası periodontitisle ilişkilendirildiğinde böyle bir mekanizmaya dayanması mümkündür. Gingival sulkus enflamatuvar hücreler, enzimler ve dental plağa karşı karakteristik nötrofil akümüülasyonu cevabını içerebilmektedir ve bu yolla nötrofil enzim proteinaz-3 gingival ve periodontal dokulardaki inflamasyona katılır. Proteinaz-3 oral epitel hücrelerinin PAR-2'yi aktive ettiği ve pro-enflamatuvar sitokin olan IL-8 üretimini teşvik ettiği gösterilmiştir (Uehara ve ark. 2002). Sınırlı bilgiler dahilinde değerlendirildiğinde, periodontal hastalık tedavisinde triptaz ve proteinaz-3 ve aktive-PAR-2 proteazın kontrolü periodontal hastalığın düzenlenmesi için potansiyel olarak yararlı olabilir (Fiorucci ve Distrutti, 2002).

2.7. Nörojenik Enflamasyon

Bir asrı aşkın süre önce yapılan ilk gözlemlerde dorsal kök gangliyon nöronlarının aktivasyonu sonucu vazodilatasyon oluşması, bu nöronların yalnızca afferent bilgiyi omuriliğe taşımadığı, aynı zamanda efferent fonksiyonu da olduğu görüşünü desteklemektedir (Bayliss, 1901). O günlerden beri duyusal nöronların

periferel uçlarının lokal depolarizasyonu, akson refleks veya dorsal kök refleksleri sonucu biyoaktif maddeler salındığını destekleyen kanıtlar artmaktadır. Bu maddeler kırmızılık, lokal ısı, şişlik ve hipersensitive ile karakterize enflamasyonu oluşturan periferdeki mast hücreleri, immün hücreler ve vasküler düz kaslar gibi hedef hücreler üzerine etki yapar. Nörojenik enflamasyon fenomeni, primer duyusal nöron terminallerinden salınan maddeler sonucu oluşan enflamatuvar semptomlar olarak tanımlanmıştır (Richardson, 2002).

Nörojenik enflamasyonun oluşumunda, kırmızıbiberin içeriğindeki bir vanilloid olan kapsaisine duyarlı küçük çaplı duyusal nöronlar büyük öneme sahiptir (Holzer, 1988). Kapsaisinin intradermal enjeksiyonu hızlı bir hipersensitivite ve ısı artışı oluşturur ve bu semptomlar denervasyon ya da kapsaisine önceden maruz kalma ile önlenbilir ki bu terminallerdeki nöropeptid içeriğinin tükenmesi demektir. Ayrıca, duyusal fiberlerce antidromik stimülasyon ile oluşturulan nörojenik enflamasyon kapsaisine duyarlı fiberlerin yıkımı sonucu azalma gösterir (Holzer, 1988).

Kapsaisine duyarlı duyusal nöronlardan salınan birçok potansiyel madde olmasına rağmen, SP ve CGRP' nin nörojenik enflamasyonu başlatan ana nöropeptidler olduğunu çok sayıda kanıt desteklemektedir (Holzer, 1988). Sözü edilen bu nörotransmitterler hafif miyelinli A-delta ve miyelinsiz C liflerine hayat veren küçük dorsal kök gangliyon hücresinde bir altküme olarak bulunurlar. C liflerinin uyarılması periferel ve omurilik dorsalinde SP ve CGRP salınımına neden olurken neonatal kapsaisin içeren kapsaisine duyarlı fiberlerin yıkımı bu peptidlerin miktarını azaltır (Holzer, 1988). SP ve CGRP endotel hücreleri, mast hücreleri ve arteriollerle etkileşime girerek nörojenik enflamasyon semptomları üretirler (Maggi, 1995). Bu semptomlar SP veya CGRP agonistleri kullanılarak taklit edilebilir ve bu peptidlerin direkt kendilerinin ya da reseptörlerinin antagonistleri kullanılarak zayıflatılabilir (Maggi, 1995).

SP ve CGRP'ye ek olarak glutamat ve prostaglandinler de küçük çaplı duyusal nöronlarda sentezlenir ve salınırlar. Glutamatın duyusal nöronlardan salındıktan sonra periferel fonksiyonu ve nörojenik enflamasyondaki potansiyel rolü net bilinmemekte olup, bu nöronların ayrıca siklooksijenazlar içerdiği ve proenflamatuvar prostaglandin sentezlediği yönünde kanıtlar mevcuttur (Vasko ve ark., 1994). Glutamat ve prostaglandin reseptörleri küçük çaplı duyusal nöronların üzerinde lokalize olduğundan

bu maddelerin salındıklarında parakrin ve otokrin etkileri olduğu tahmin edilmektedir. Bu konuda kapsaisine duyarlı nöronlardan salınan nörojenik enflamasyona hangi diğer potansiyel mediyatörlerin etkideği ya da başka hangi tip sensör nöronların enflamatuvar semptomlara katkısı olduğu soruları hala soru işareti olarak akıllardadır (Lundy ve ark., 2004).

Nörojenik enflamasyonun duyuşal nöronlardan salınan maddelerce tetiklenmesinde, hangi koşulların ve kimyasalların bu salınımı kontrol ettiğı ve hücreşel mekanizmasının nasıl işlediğinin anlaşılması kronik enflamasyonla mücadele konusunda kritik öneme sahiptir. Aslında sensör nöronların uyarılabilirliğinin kontrol edilebilmesi, migren, artrit, KOAH (Kronik Obstrüktif Akciğler Hastalığı), astım gibi bir dizi hastalıkta tedavi edici sonuçlar doğurabilir (Richardson ve ark., 2002).

2.7.1. Nöropeptidler

Tüm sinir hücreleri ve nöronlar aynı temel görevi yerine getirirler. Her nöron kimyasal ya da mekanik uyarana karşı bir elektriksel yanıt oluşturarak kendi uzun hücre yapısı üzerinde taşıyıp terminal ucunda da elektriksel aktiviteyi kimyasal sinyale çevirir. Nörotransmitter denilen aktif kimyasal diğer nöronun membranına doğru sinapsı kat eder. Burada nörotransmitter sinyalin elektriksel olarak devam etmesini sağılayan özğün reseptörlerle ilişkiye girer. Diğer yandan nörotransmitterler, ekstrasellüler sıvıya karıştıklarında parakrin fonksiyonlarıyla da yakın çevredeki nöronların ve immün hücrelerin reseptörleri yoluyla da lokal etki gösterebilirler (Lundy ve ark., 2004).

Kısaca nöropeptidler, peptid nörotransmitterlerdir. Bir peptidin nöropeptid olarak kabul edilebilmesi için nöronlarda üretilip, salıverilmesi ve hedef hücrelerdeki ekstrasellüler reseptörler aracılığıyla biyolojik aktivite göstermeleri gerekmektedir (Hoyle, 1999). Nöropeptidler sıra dışı birçok fonksiyonu kontrol eder ve bilinen en büyük transmitter madde sınıfını oluştururlar. Uzun bir filogenetik tarihçeye sahip olup çok iyi korunmuşlardır, bu da önemli evrimsel rolleri olduğunu göstermektedir (Holmgren ve Jensen, 2001). Omurgalılarda nöropeptidler sinir sisteminin her bölümünde bulunurlar. Otonomik pre- ve post- gangliyon nöronlarında, primer sensör nöronlarda, somato-sensör nöronlarda ve merkezi sinir sistemine ait tüm nöronlarda bulunurlar (Lundy ve ark., 2004).

SP ve Taşikininler

1931 yılında von Euler ve Gaddum toz halinde ekstrakte ettikleri vazoaktif materyali SP olarak isimlendirdiler. SP, tüm memeli türlerinde aynı yapıda olduğuna inanılan ve 11 aminoasitten oluşan bir peptiddir ve taşikinin ailesinden olup nörokinin olarak da bilinir. SP'nin yanı sıra NKA ve NKB olarak adlandırılan taşikininler de mevcuttur. SP ve NKA pre-protaşikin A geninin rutin transkripsiyon ürününün alternatif bağlanması sonucu oluşur (Nawa ve ark., 1984). Pre-protaşikin A geni sitokinler, glikokortikoidler, nöropeptidler ve LPS tarafından indüklendiği gösterilse de mekanizmaları halen açıklanamamıştır (Rameshwar, 1997). SP ve NKA yoğun bir şekilde çalışılmış olup benzer dağılım gösterirken; NKB bunlardan farklıdır (Helke ve ark., 1991). SP ve NKA, seviyelerinin dozuna bağlı olarak nörojenik enflamasyonla ilgili geniş bir biyolojik aktiviteye sahiptirler. SP, direkt olarak düz kas hücrelerine etki ederken, indirekt olarak da mast hücrelerinden histaminin salınımını uyarır ve vazodilatasyona neden olur (Mechiche ve ark., 2011). Taşikininler güçlü pro-enflamatuvar özellikleri sayesinde mikrovasküler permeabilite artışı, ödem ve plazma protein ekstrasvazasyonu gibi önemli periferik etkiler oluştururlar (Janelins ve ark., 2008).

CGRP

CGRP, Amara ve öğrencilerinin kalsitonin genin RNA'sının alternatif çalışması sonucu oluşan mRNA'nın oluşturduğu peptit olarak 1982'de keşfedildi. CGRP 37 aminoasitten oluşan bir peptit olup, tüm memeli türlerinde çok ince farklarla birbirinden ayrılan düzen sergiler. Santral ve periferik sinir sisteminde geniş dağılım gösterirken, duyu sinirlerinde özellikle yüksek miktarlarda bulunurlar. CGRP vazodilatör aktivite potansiyeli olan bir peptit olup sıklıkla SP etrafında lokalizedir. Aslında vazodilatör aktivitesini SP'nin düzenlediğinin gösterilmesi, bu lokalizasyonun önemli fonksiyonel bir özellik olduğunu desteklemektedir (Larsson ve ark.,1991). SP'nin aksine CGRP'nin, IL-2'yi ve sıçanlardaki T hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı gösterilmiştir (Wang ve ark., 1992). CGRP direkt olarak stimüle edilmemiş Th klonlarının sitokinlerine etki ederek atipik sitokin salınımını neden olur ve Th fenotiplerinin polarizasyonuna etki etmiş olur (Levite, 1998).

VIP (Vazoaktif İntestinal Polipeptit)

VIP, 28 aminoasitten oluşan bir peptid olup, ilk olarak domuz bağırsağından elde edilmiştir (Said ve Mutt, 1970). Sonraları santral ve periferel sinir sisteminde tekrar keşfedilmiştir. VIP'in her yerde bulunan bir peptid olduğu bilinmektedir ve tükürük sekresyonundan düz kaslarda rahatlamayı da içeren geniş bir fizyolojik hareket profiline sahiptir. Son on yılda ise VIP, proenflamatuvar ve antienflamatuvar mediatör üretiminin düzenlenmesinden sorumlu (Ganea ve Delgado, 2002) önemli bir nöroimmunmodülatör peptid olarak kabul görmektedir (Delgado ve ark., 2004). İmmüsupresif özellikte bir nöropeptittir ve fazla miktarda pro-enflamatuvar sitokin üretimini önlediği kabul edilen bir grup düzenleyici molekülden biri olan makrofaj-deaktive eden faktör olarak bildirilmiştir. LPS'ler makrofaj β üzerindeki CD14 (Küme Farklılaşma-14) reseptörüne bağlanırlar. VIP bu durumdaki LPS'nin TNF- α , IL-6, IL-12 (İnterlökin-12) üretimine neden olmasını engeller. Buna ek olarak, potensiyel anti-enflamatuvar sitokin, IL-10 (İnterlökin-10) üretimini ve baskılanmış T hücre proliferasyonunu stimüle eder (Ganea ve Delgado, 2002).

NPY

NPY, 36 aminoasit'ten oluşan, pankreatik polipeptid ailesinin bir üyesidir. Merkezi sinir sisteminde NPY'nin en zengin kaynağı hipotalamusun 3. ventriküle komşu kısmında yerleşen afferent nöronudur. Kısmi olarak ise post ventriküler nöron, suprakiazmatik nükleus, median eminens ve dorsomedial çekirdekte bulunur. GABA (Gama Amino Bütirik Asit)' erjik internöronlarda ekspresse edilir ve depolanır. Sinir terminallerinin merkezi kısımlarında büyük yoğunlukta bulunur ve sinaptik veziküllerde depolanır (Gehlert, 1999; Small ve Bloom., 2004). Normal beyinde yalnızca inhibitör nöronlarda bulunur (Brill ve ark., 2006), periferde ise sempatik sinir sisteminde yoğunlaşmıştır ve norepinefrin ile birlikte depo edilerek salınır (Cerdá-Reverter ve Larhammar., 2000). NPY, enerji dengesinin düzenlenmesi, hafıza, öğrenme, uyku-uyanıklık siklusunun düzenlenmesi, günlük sirkadiyen ritm (Yannielli ve ark., 2001), kan basıncının düzenlenmesi (Hu ve Dunbar, 1997) ve beslenme gibi birçok fizyolojik fonksiyon için gereklidir. NPY anksiyete, yeme bozuklukları, Huntington hastalığı, Alzheimer, Parkinson, epilepsi ve çeşitli nöbetlerin patogenezinin karışır (Baraban, 2004). Birçok hipotalamik nöropeptidin sekresyonunu düzenler, kortikotropik aksı

uyarır ve gonadotropik/somatotropik aks üzerinde baskılayıcı bir etkisi vardır. NPY'nin altı adet reseptörü bulunmakta olup, Y_{1-6} olarak adlandırılır. En çok Y_1 ve Y_2 reseptörü bulunur. Bunlardan Y_1 reseptörü postsinaptik, Y_2 reseptörü presinaptik olup, yeme davranışı ile en çok ilgili olan reseptörler Y_1 ve Y_5 'tir (Arora ve Anubhuti, 2006). Hipotalamik NPY'nin ekspresyonu ve salınımı leptin tarafından inhibe edilir. Leptin ve NPY arasındaki etkileşimin, vücut ağırlığının düzenlenmesinde en önemli faktör olduğu düşünülmektedir. Örneğin leptin eksikliğinde ve açlıkta hipotalamusta oreksijenik NPY seviyesinde artma meydana gelirken, ekzojen leptin verilmesi ile NPY düzeyi azalmaktadır. Leptin eksikliği olan ob/ob farelerde hipotalamik NPY artmakta ve şiddetli obezite meydana gelmektedir. Hipotalamus içine kronik NPY verilen normal hayvanlarda da obezite meydana gelmektedir (Ahima ve ark., 1999).

2.7.2. Nöropeptidlerin Sentezlenmesi

Nöropeptidler direkt olarak nükleer genlerin transkripsiyonundan köken almakta olup, merkezi ve periferal yönlerde aksonal transport bölgesine komşu nöron perikaryonundaki ribozomlardan sentezlenirler. Ribozomal nöropeptid sentezi için nöron gövdesi ya da perikaryon tek bölge olarak düşünülse de nöropeptid kodlayan mRNA akson bölgesinde de bulunmuştur (Jirikowski ve ark., 1990).

Olgun nöropeptidler, tüm protein ve polipeptidler gibi büyük prekürsör prepropeptid moleküllerinden ayrılma yoluyla üretilirler. Pre- kısmı (sinyal) endoplazmik retikulum içinde ayrılarak propeptidi (inaktif prekürsör) oluştururlar. Propeptidin bir veya daha fazla nöropeptid sekansı içermesi ve işlemde görevli enzimin türüne göre biyolojik olarak aktif hale gelmesi ile nöropeptidler çeşitlilik kazanır (Lundy ve ark., 2004). Bu sentezleme metodu sinaptik veya parakrin iletimde görev alan nöropeptidlerin çeşitliliğini yüksek oranda arttırmakta ve büyük inaktif prekürsörlerin sentezlenmesinin biyolojik yüküne açıklama getirmektedir. Biyolojik olarak aktif nöropeptid oluşum sürecinin son aşaması post-translasyonel modifikasyonlardır (Lundy ve ark., 2004). Bu modifikasyonlar; C-terminaline amid grubu eklenmesi, N-terminalinin asteillenmesi, disülfid bağ oluşumu, glikolizasyon, fosforilasyon ya da sülfasyonu içerir. Biyolojik olarak aktif nöropeptidler sinaptik boşlukta salınımına hazır şekilde büyük, yoğun ve çekirdek vezikül denen yapılarda depolanırlar. Nöropeptidlerin sentezi düşük molekül ağırlıklı nörotransmitterlere göre

daha karmaşık ve farklı bir süreçtir (Hökfelt ve ark., 2000). Asetil kolin, norepinefrin, GABA gibi düşük molekül ağırlıklı nörotransmitterler, besin kaynaklarından bir veya iki enzimatik işlem sonucu sentezlenirler. Bu sentez olayı sinir terminalindeki sitoplazmada gerçekleşir ve transmitter madde küçük bir sinaptik vezikülde salınma hazır şekilde depolanır (Hökfelt ve ark., 2000).

2.7.3. Nöropeptidlerin Salınımı

Nöropeptidler sinaptik boşluktaki büyük yoğun çekirdek veziküllerden kalsiyuma bağlı depolarizasyona cevap olarak salınırlar. Nöropeptid salınımı için gerekli uyarın, genellikle düşük molekül ağırlıklı transmitterlerin salınımı için gerekli olan miktara oranla daha yüksek frekansa ve daha uzun süreye ihtiyaç duymaktadır (Augustine, 2001). Nöropeptidler serbestlendiğinde post sinaptik bölgede direkt etki gösterirler, ancak bu görevlerinden daha çok post sinaptik alanda düzenleyici fonksiyonları vardır. Bu düzenleyici fonksiyonlardan bazıları, düşük molekül ağırlıklı nörotransmitter faaliyetlerinin artırılması veya azaltılması olarak sıralanabilir (Zukowska ve ark., 1998). Nöropeptidlerin, salınımlarını takiben post sinaptik nörotransmitter ve nöromodülatör rollerinin yanı sıra parakrin etkileri de mevcuttur. Birçok nöropeptid lokal mikro çevreye difüze olmalarını takiben nöronal olmayan hedefler üzerinde etki gösterirler. İmmun sistem hücreleri SP (McGillis ve ark., 1990) ve CGRP (Wang ve ark., 1999) için fonksiyonel nöropeptid reseptörü içerirler. Bu da nöropeptidlerin parakrin etkisinin önemli bir immun düzenleyici olduğunu desteklemektedir. Bununla birlikte patolojik koşullar altında sinir sistemine özgü peptidler nöronal olmayan enflamatuvar hücrelerden de sentezlenip salınabilmektedir (Metwali ve ark., 1994). Nöropeptidler nörotransmitter veya nöromodülatör olarak sinapta rol alabildiği gibi, diğer lokal hücre bölgelerinde reseptörleri ile parakrin etki gösterirler.

2.7.4. Nöropeptidlerin Reseptörleri

Nöropeptidler hücre membranını geçemezler ve bu yüzden post sinaptik bölgede veya hedef hücrede cevap oluşturabilmek için bir reseptör ile etkileşime girmek zorundadır. Nöropeptidlerin yaklaşık % 80'inin G-protein reseptörü ile etkileşime girdiği bilinmektedir (Bouvier, 2001). G-protein reseptörü memelilerde sinyal

transdüksiyonu için kullanılan en yaygın reseptördür. Nöropeptidler G-protein reseptörüne geri dönüşümlü bir şekilde bağlanırlar. G-proteini sinyal transdüksiyon mekanizmasının bir sonraki aşaması olan adenilat siklaz ve cAMP (siklik Adenozin Mono Fosfat) oluşumunu tetikler. cAMP sekonder haberci olarak görev yaparak cAMP-bağımlı kinazı aktive eder. Protein uyumunu arttırma yolu ile cAMP-bağımlı kinaz iyon kanallarını, enzimatik aktivite ve/veya yapısal proteinleri düzenler (Bouvier, 2001).

G-protein reseptörüne ligandın bağlanmasından sonra gelişen olaylarda ayrıca önem arz etmektedir. Çünkü bu olay hedef hücrenin nöropeptide karşı olan resensitizasyonunu belirler. Resensitizasyon hücrelere uyarana karşı yanıt verebilme yeteneklerini düzeltme ve devam ettirebilme şansı tanır. Bu durum kronik enflamatuvar süreç üzerindeki önemli determinantlardan biridir. SP-NKA reseptör ilişkisi ayrıntılı bir şekilde çalışılmıştır (Mechiche ve ark., 2011; Janelins ve ark., 2008). SP, NKA reseptörüne bağlanarak sinyal oluşturur ve böylece SP-NKA reseptör kompleksi sağlamlaşır. Perinükleer bölgedeki endozomal asidifikasyon SP' nin ayrılmasına neden olur ve lizozomda parçalanma görülür, NKA reseptörü ise geri dönüşüm için plazma membranına geçer. SP'nin hedef hücre tarafından algılanması reseptör stimülasyonundan sonra görülen bir olaydır (DeFea ve ark., 2000). Bu sebepten dolayı ekstrasellüler matriksteki nöropeptid konsantrasyonu bu yol ile düzenlenmez. SP ile uyarılmış endositoz plazma membranındaki yüksek afiniteli reseptörleri kullanır ve tüketir. Ancak hücrelerin SP ile resensitizasyonu yalnızca reseptörlerin geri dönüşümüne neden olurken yeni reseptör sentezine sebep olmaz (DeFea ve ark., 2000).

2.7.5. Nöropeptidlerin Yıkılması

Nöropeptidler, salınımlarını takiben peptidazlar tarafından metabolize edilerek aktiviteleri sonlandırılır. Bu nedenle peptidazlar nöropeptidlerin miktarını düzenlemede esas rolü oynamaktadır. Nöropeptidlerin metabolik olarak parçalanması, klasik nörotransmitterler olarak adlandırdığımız peptidlerin yüksek seçicilik gösteren yıkımına oranla daha az karmaşık bir olaydır (Lundy ve ark., 2000). Nöropeptidin salındığı doku veya vücut sıvısı içerisinde peptid hidrolizi üzerinde lokal enzimlerin yokluğuna ve/veya aktivitesine bağlı olarak önemli düzenleyici etkileri vardır. Nöropeptidlerin yıkımında görevli enzimler: endopeptidazlar, ekzopeptidazlar, aminopeptidazlar ve karboksipeptidazlardır. Nöropeptidlerin yıkımının bu enzimlerden birkaçının faaliyeti

sonucu meydana geldiğine inanılmaktadır. Ancak düşük molekül ağırlıklı nörotransmitterlerin her biri kendine özgü bir enzim tarafından yüksek seçicilikle yıkıma uğrar (Turner, 1986). Ayrıca nöropeptidler düşük molekül ağırlıklı nörotransmitterlere göre daha yavaş yıkılırlar. Bu da nöropeptidlerin uzun ve geniş çaplı etkilerine bir örnek olarak gösterilebilir (Lundy ve Linden, 2004).

2.8. Periodontal Sağlıkta ve Hastalıkta Nöropeptidler

Periodontal dokular trigeminal sinirin maksiller ve mandibular dallarının sensör demetleri tarafından innerve edilir. Periodontal innervasyonun büyük kısmını gerçekleştiren sensör sinir uçları, trigeminal gangliyondan köken alır. Boyut olarak küçükten büyüğe C fiberleri (0.1-1.0 µm çapında), Aδ fiberleri (1-5 µm çapında) ve Aβ fiberleri (6-10 µm çapında) olarak sıralanırlar (Lindhe ve ark., 2008). Miyelinsiz sinirlerin en az %10'u superior servikal gangliyon kaynaklı sempatik fiberlerden veya sfenopalatin gangliyondan köken alan parasempatik fiberler ile üst çene dişlerini ya da otik gangliyondan alt çene dişlerinin otonomik sinir desteğini sağlar. Periodontal dokular çoğunlukla kan damarları ile yakın ilişkide bulunan miyelinli sinirler tarafından innerve edilirler. Bu fiberler miyelin kınlarını periodontal ligamente ulaştıklarında kaybederler ve serbest miyelinsiz uç ya da özelleşmiş reseptör olarak sonlanırlar (Lindhe ve ark., 2008).

2.8.1. Gingival ve Periodontal Dokularda Nöropeptidler

İnsanlarda periodontal dokuları innerve eden fiberler SP, CGRP, VIP ve NPY gibi bazı nöropeptidlere immünoreaktif tepki gösterirler (Luthman ve ark., 1989). SP'nin insan dişeti dokusunda "retepeglerin" içinde ve perivasküler bölgelerde lokalize olduğu immunohistokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir (Bartold ve ark., 1994). Subepitelial bağ dokusu kökenli sinir fiberleri birleşim epiteline de penetre olabilmektedir. İntra-epitelial sinirler miyelinsiz olup bazı nöropeptidleri bulundururlar (Bartold ve ark., 2000). Daha önceden birleşim epitelinin çoğunlukla SP'nin sinir fiberleri tarafından innerve edildiği gösterilmiştir (Nagata ve ark., 1992). Şimdilerde ise malassez epitel artıklarında bulunan nöroendokrin hücrelerin SP, CGRP, ve VIP eksprese ettikleri gösterilmiştir (Kvinnslund ve ark., 2000).

CGRP, VIP ve NPY'nin sıçanlarda periodontal ligament bölgesindeki kan damarları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Böylece bu moleküllerin bölgedeki kan akışını düzenleyici rolleri desteklenmiştir (Kato ve ark., 1996). Günümüzde oral mukozaya kapsaisin uygulamasının insan gingival mukoza dokusunda akson refleksi ilişkili kan akımı artışına sebep olduğu gösterilmiştir (Kemppainen ve ark., 2003). Rat kesicilerinin lingual periodontal ligamentindeki miyelinli aksonlarında periferik sinir hasarı sonrası NPY gözlenmesi bu maddenin rejenerasyonda görev aldığı görüşünü desteklemektedir (Wakisaka ve ark., 1996). Daha önce de periferik sinir hasarı sonrası NPY'nin artmış seviyeleri rapor edilmiştir (Wakisaka ve ark., 1993).

2.8.2 Nöropeptidler ve Periodontitis

Periodontitis, önemli nörojenik komponenti olan ve toplumda ağız ve diş sağlığı hastalıklarının büyük bir kısmını oluşturan kronik enflamatuvar bir hastalıktır (Györfi ve ark., 1992). Oral kavite travmatik pH değişiklikleri, ısı değişiklikleri ve çeşitli endotoksinlere maruz kalma gibi dış hasarlara karşı hassas bir ortamdır. Bu duyarlı dokularda nörojenik enflamasyonun uyarılması için yukarıda sayılan faktörlerin ortamda normal değerleri dışında ya da uzun süre bulunmaları yeterlidir. Dişetin yoğun bir şekilde peptiderjik nöronlar tarafından innervasyonu (Luthman ve ark., 1989) ve dişeti oluşu sırasında nöropeptidlerin tanımlanması (Linden ve ark., 1997, 2002; Lundy ve ark., 1999, 2000; Hanioka ve ark., 2000) ile periodontitis ve diğer orafasiyal enflamatuvar hastalıklardaki düzensizliklerin, bazı nöropeptidlerin kayda değer değişiklikleri sonucu oluştuğu kanıtı gün geçtikçe artmaktadır. Gingivitis ve periodontitisten etkilenmiş bölgelerden alınan doku örneklerindeki nörokimyasal maddelerin dağılımı nöropeptidlerin periodontitis patogenezindeki olası rolünü desteklemektedir (Luthman ve ark., 1989; Bartold ve ark., 1994). Bununla birlikte, nöropeptidlere ek olarak periodontal hastalıklarda enflamasyonun yoğunluğu ve süresi immün hücreler ve enflamatuvar mediyatörler arasındaki düzenleyici sistemler tarafından kontrol edilir. Periodontitisli bireylerde SP ve NKA düzeyleri hastalıktan etkilenmiş bölgelerde, sağlıklı bölgelere oranla daha yüksek bulunmuştur (Linden ve ark., 1997). İzole edilen düzeylerde taşıkininlerin biyolojik aktiviteye sahip olabilecekleri düşünülmektedir. Ancak periodontal cep, bağ dokusu veya her ikisinde mi fonksiyon gördüğü henüz netlik kazanmamıştır (Lundy ve ark., 2004). Dişeti

bağdokusuna nöropeptid salınımı, epitel boyunca difüze olarak gingival sulkus ya da periodontal cebe geçiş gösterir. Enflame bölgelerden alınan dişeti oluğu sıvısı örneklerinde SP'nin karşılaştırmalı seviyeleri ELISA (Enzim İlişkili İmmün Test) yöntemi ile çalışılmıştır (Hanioka ve ark., 2000). SP, PGE2, IL-1 β ve TNF- α konak yanıt indikatörleri ile pozitif korelasyon göstermiştir (Hanioka ve ark., 2000). SP ve NKA serumda çok düşük düzeylerde ve yarı ömürleri çok kısa olarak bulunmaktadır. DOS'ta bulunan bu nöropeptidlerin kaynağı sinir uçları ve o bölgede bulunan enflamatuvar hücrelerdir. Periodontitisli bireylerdeki DOS'ta yüksek SP ve NKA seviyeleri periodontal tedavi sonucu düşüş göstermiştir (Lundy ve ark., 2000). LPS eklendiğinde SP'nin monositlerde IL-6 sentezini indükleyebildiği *in vitro* olarak gösterildiğinden beri, plağın SP'nin periodontitis üzerindeki bazı etkilerini düzenleyen önemli bir ko-faktör olabileceği düşünülmüştür (Lieb ve ark., 1996).

CGRP de DOS'ta tanımlanmış olup periodontal sağlıklı alanlarda, gingivitisli bölgelere oranla daha yüksek bulunmuştur (Lundy ve ark., 1999). CGRP'ye periodontitisli bölgelerde rastlanamamış, bu durumun hastalıklı bölgelerde CGRP'nin DOS bileşenleri tarafından yıkılması sonucu meydana gelebileceği ileri sürülmüştür (Lundy ve ark., 1999). Antienflamatuvar nöropeptid olan CGRP'nin seri bir şekilde yıkılması periodontal enflamasyondaki taşıkininlerin proenflamatuvar etkinliğini arttırıcı rol oynar (Lundy ve ark., 2000). Degranüle olan mast hücrelerinden salınan karboksi peptidazlar, Brain ve Williams'ın ortaya koyduğu, SP tarafından uyarılmış mast hücrelerinden proteolitik enzimler salgılaması sonucu CGRP yıkımının hızlandığı hipotezine uyum göstermektedir (Brain ve Williams, 1989). Kemik remodelasyonu ile CGRP'nin ilişkisini destekleyen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Adam ve ark., 2000, Kontinen ve ark., 1996)

2.8.3 Nöropeptidler ve Kemik

Kemik rezorpsiyonu ve formasyonu arasındaki dengenin sekteye uğraması romatoid artiritten periodontitise kadar çeşitli hastalıklarda ana problemi oluşturmaktadır. Kemik metabolizmasında kalsitonin, parathormon gibi sistemik hormonlar ve vitamin D₃ önemli rol oynamaktadır. Kemikteki yoğun peptiderjik innervasyonun görevinin sadece sensör fonksiyonun yansıtılması ya da vasküler sistemin kontrolü olduğu düşünülmekte iken, nöropeptidlerin kemik metabolizmasında

önemli düzenleyici rolleri olduğu gün geçtikçe belirginleşmektedir (Lundy ve Linden, 2004).

Kemik metabolizması ile nöropeptid ilişkisinin ilk olarak incelenmesine CGRP'nin amino asit sekansının, kalsitoninin N-terminal ucuyla homoloji göstermesinin keşfedilmesiyle başlanmıştır. CGRP kemik içerisinde kan damarlarıyla yakın ilişkili sinir fiberleri vasıtasıyla yaygın dağılım göstermektedir (Írie ve ark., 2002). Ayrıca, CGRP özgün bölgesel dağılım gösterir ve osteoklastlarla yakın temas halindedir (Ímai ve ark., 1997). Periodontal ligamentte CGRP'nin immün reaktif sinir fiberlerinin kök sementine yakın bölgelerinde dağılım gösterdiği bildirilmiştir (Heyeraas ve ark., 1993). Deneysel olarak oluşturulmuş sıçan periapikal lezyonlarında CGRP immün reaktif sinir fiberleri en yüksek düzeye ulaştıklarında kemik rezorpsiyonu yapan osteoklast sayısının azalmaya başladığı gösterilmiştir. Böylece CGRP'nin kemik yıkımı inhibisyonundaki olası rolü öne sürülmüştür (Toriya ve ark., 1997). Hukkanen ve ark., 1993 yılında kemik fraktür bölgesindeki kallus oluşumunda ve sonraki kemik remodelasyonunda CGRP fiberlerinin hızlı şekilde çoğaldıklarını ortaya koymuşlardır (Hukkanen ve ark., 1993). CGRP fiberleri, ayrıca ortodontik diş hareketine karşı oluşan mekanik strese karşı cevap olarak periodontal ligamentte artış göstermiştir (Irie ve ark., 2002).

CGRP'nin kemik hücreleri üzerindeki etkisi yaygın bir şekilde incelenmiş olup kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiği in vivo (Valentijn ve ark., 1997) ve in vitro (Zaidi ve ark., 1987) olarak gösterilmiştir. CGRP'nin osteoklastlar üzerine olan etkisinin bir yönü de bu hücrenin motilitesini azaltmasıdır. CGRP osteoblastların farklılaşmasını ve sitokinlerinin üretimini in vitro olarak düzenler (Valentijn ve ark., 1997). Osteoblastlar üzerinde CGRP dahil birkaç nöropeptid için reseptörler eksprese edilmektedir (Bjurholm ve ark., 1992). Ayrıca osteoblastların endojenöz olarak CGRP eksprese ettikleri gösterilmiştir. Fazla miktarda CGRP eksprese eden osteoblastlara sahip transjenik farelerde artmış kemik formasyonu ve kemik hacmi görülmüştür. Bu durum CGRP'nin kemik üzerinde yalnız sinirsel yollarla değil ayrıca otokrin olarak da etki gösterdiğini kanıtlar niteliktedir (Ímai ve Matsusue, 2002).

Kemik dokudaki nöropeptidlerin varlığı sadece immünohistokimyasal olarak değil de radyo immüno girişim yöntemiyle de miktar olarak belirlenebilmektedir (El-Karim ve ark., 1997).

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmamızın klinik aşamaları Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda, laboratuvar işlemleri ise Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Araştırma protokolü ve aşamalarına, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Araştırma Etik Kurulu tarafından alınan onay sonrası (28.10.2011) başlandı.

3.1. Hasta Popülasyonu

Araştırmaya: i) aynı tip yüzey özelliğine sahip implantlar kullanılarak implant destekli sabit protezlerle tedavi edilmiş, ii) sigara kullanmayan ve herhangi bir sistemik rahatsızlığı olmayan, iii) son 6 ay içerisinde herhangi bir antibiyotik kullanmamış ve iv) 30-55 yaşları aralığındaki erkek bireyler dahil edildi. Bu özellikleri taşıyan popülasyonda: i) kemikiçi implant tedavisi sonrası en az 1 yıl sabit protetik restorasyon kullanan, ii) aynı ağızda ve çenede simetrik olarak veya aynı diş grubunu (anterior, premolar ve/veya molar dişler) temsil edebilen en az bir diş ve bir implantı olan, iii) eşleştirilen doğal dişte herhangi bir dental ve/veya endodontik restorasyonun olmayan ve iv) implant üstü restorasyonun aynı tip metal seramik tam kron ve/veya köprü ile yapılmış olan bireyler periodontal ve periimplant sağlık durumlarına göre tekrar kendi içinde ayrıldı.

3.2. Periodontal ve Periimplant Sağlığın Değerlendirilmesi

Periimplant ve periodontal sağlığın tespitinde rutinde kullanılan klinik yöntemlerden yararlanıldı:

a) Ağızdaki plak oluşumu ve birikim derecesini ölçmek için Silness-Löe plak indeks (PI): Konvansiyonel periodontal sonda dişeti, plastik periodontal sonda periimplant mukoza kenarına yakın bölgede diş/implant yüzeyine paralel olarak dişeti oluşu/periimplant marjini bölgesinde gezdirilerek biriken plak miktarı skorlandı. Buna göre:

0- plak yok

1- gözle fark edilmeyen ancak sond marjinde gezdirildiğinde fark edilen plak

2- inceden orta kalınlığa kadar plak kaplıdır ve çıplak gözle izlenebilir

3- yumuşak eklenti fazladır ve marjini doldurur şeklinde indeksleme yapıldı.

b) Periimplant mukoza/dişeti enflamasyonunu teşhisi için Le-Silness gingival indeksi (Gİ): Konvansiyonel periodontal sonda dişin, plastik periodontal sonda implantın uzun aksına dik olacak şekilde dişeti/periimplant mukoza kenarına temas ettirilip diş/implant yüzeyinde gezdirilerek oluşan kanama ve dişeti/periimplant mukoza yüzey özelliklerine göre skorlama yapıldı. Buna göre:

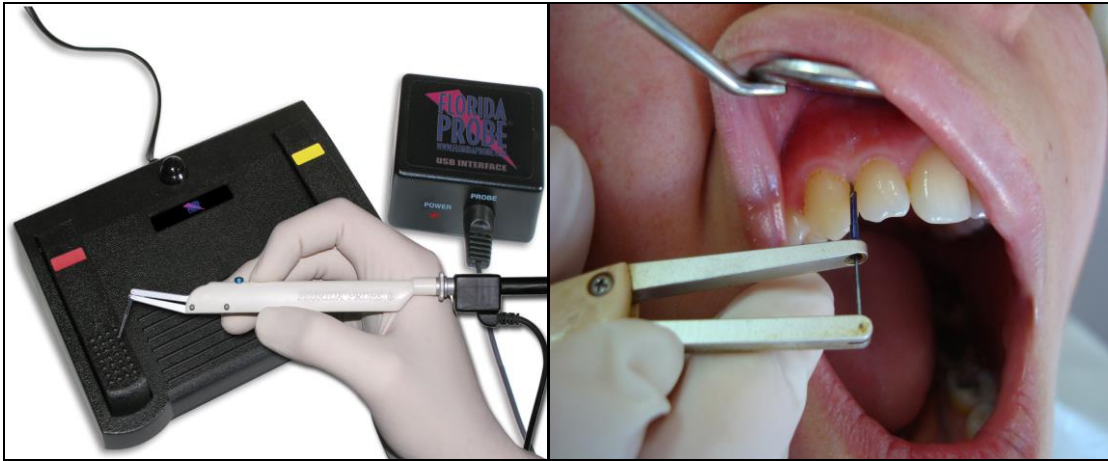
0- normal

1- renkte hafif değişiklik, hafif ödem, sondalamada kanama yok

2- kırmızılık, ödem, parlaklık, sondalamada kanama var

3- belirgin kırmızılık ve ödem, spontan kanamaya eğilim şeklinde indeksleme yapıldı.

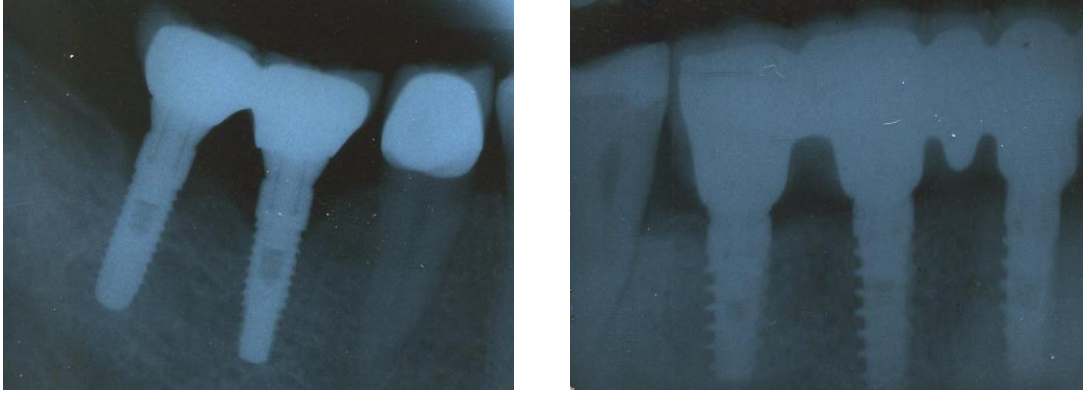
c) Patolojik periodontal/periimplant cep oluşumu ölçmek için cep derinliği (CD) ve sondalamada kanama (SK) lm: Cep derinliği ölümü için klinikte rutin olarak kullanılan periodontal sonda yerine her bölgede eşit kuvvet uygulayan (15 g), daha hassas ölüm imkanı veren (0.1 mm aralıklarla), tüm uçları titanyumdan yapılmış olan ve 0.45 mm çaplı otomatik sonda (Florida Probe[®], version FP 32/7.2.2, Florida Probe Corporation, Gainesville, USA) ile dişeti/periimplant oluğu içinde dişin/implantın uzun aksına paralel olarak itilip ilk direnç görülen yerde durularak (cep tabanı) dişeti/periimplant mukoza kenarı ile cep tabanı arasındaki mesafe lld ve bu işlem sırasında kanama olup olmadığı sondalamada kanama +/- olarak belirlendi (şekil 2).



şekil 2. Florida Probe[®] cihazı ve ağizii ölümlerinin yapılması

d) Bağ dokusu ataşmanı yıkımı tespiti için klinik ataşman kaybı (KAK) ölçümü: Klinik ataşman kaybı ölçümü CD ölçümüne benzer olarak cep tabanı ile implantta implantın boyun kısmı, dişte mine-sement sınırı arasındaki mesafenin belirlenmesi ile yapıldı (Şekil 2).

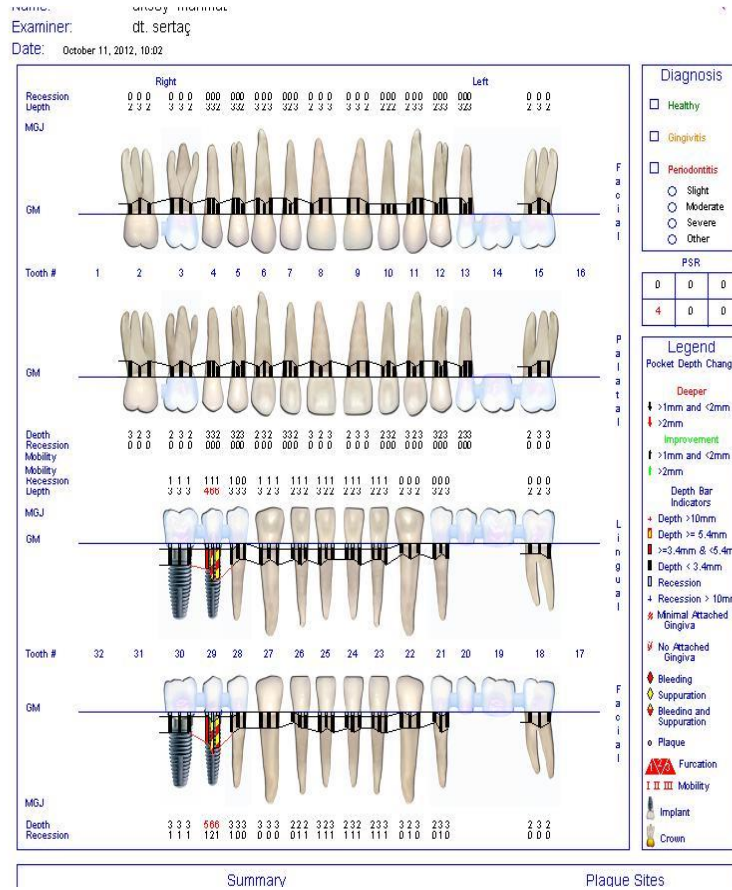
e) Alveoler kemik kaybı teşhisi için radyolojik incelemeler: Uzun-kon tekniği kullanılarak standart olarak alınan periapikal radyograflarda tanımlanmış referans noktalar dikkate alınarak değerlendirildi (Şekil 3).



Şekil 3. Periimplantitisli ve sağlıklı implantlara ait radyograflar

3.3. Klinik Verilerinin Toplanması ve Çalışma Gruplarının Oluşturulması

İmplantların ve dişlerin 6 bölgesinden (bukkal/labial ve lingual/palatinal yüzeylerin mezial, mid ve distal bölgeleri); Pİ, Gİ, SK, CD, KAK, ölçümleri yapıldı. Pİ, Gİ, CD ve KAK ölçümlerinden en yüksek skor o diş/implanta ait skor olarak belirlendi. SK değerlendirilmesinde bir dişe ait 6 bölgenin de kanama göstermemesi durumunda ilgili diş/implant bölgesi, “kanama yoktur” olarak belirlendi. Bu şekilde toplanan ölçümlerle periimplant/periodontal sağlık durumlarına göre bireyler “split-mouth” dizaynla tekrar ayrılarak çalışma grupları oluşturuldu (Şekil 4):



Şekil 4. Florida Probe® programına özel indeks sayfası

Grup 1: Çalışma kriterlerine göre en az bir adet sağlıklı implantı ve dişi bulunan bireylerde; $G\bar{I}=0$, $SK-$, $CD/KAK \leq 3$ mm olan ve röntgende kemik kaybı görülmeyen dişler bu gruba dahil edildi.

Grup 2: Çalışma kriterlerine göre en az bir adet sağlıklı implantı ve dişi bulunan bireylerde; $G\bar{I}=0$, $SK-$, $CD/KAK \leq 3$ mm olan ve röntgende kemik kaybı görülmeyen implantlar bu gruba dahil edildi.

Grup 3: Çalışma kriterlerine göre en az bir adet periimplant mukozitisli implantı ve gingivitisli dişi bulunan bireylerde; $G\bar{I} \geq 1$, $SK+$, $CD/KAK \leq 3$ mm olan ve röntgende kemik kaybı görülmeyen dişler bu gruba dahil edildi.

Grup 4: Çalışma kriterlerine göre en az bir adet periimplant mukozitisli implantı ve gingivitisli dişi bulunan bireylerde; $G\bar{I} \geq 1$, $SK+$, $CD/KAK \leq 3$ mm olan ve röntgende kemik kaybı görülmeyen implantlar bu gruba dahil edildi.

Grup 5: Çalışma kriterlerine göre en az birer adet periimplantitisli implantı ve periodontitisli dişi bulunan bireylerde; $GI \geq 2$, SK +, CD/KAK > 5 mm olan ve röntgende kemik kaybı görülen dişler bu gruba dahil edildi.

Grup 6: Çalışma kriterlerine göre en az birer adet periimplantitisli implantı ve periodontitisli dişi bulunan bireylerde; $GI \geq 2$, SK +, CD/KAK > 5 mm olan ve röntgende kemik kaybı görülen implantlar bu gruba dahil edildi.

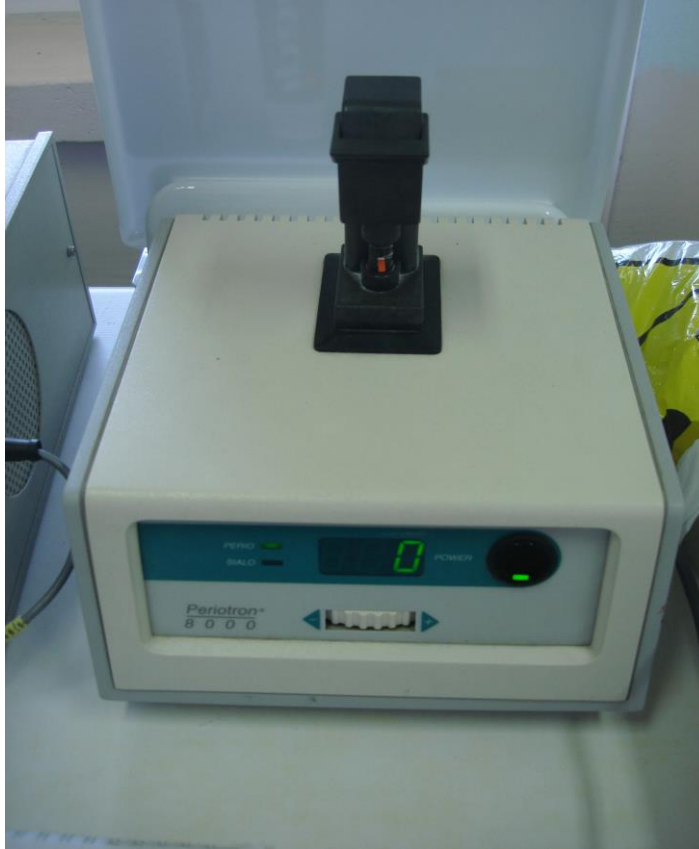
Grupların minimum büyüklüğü, 0.05'lik önem seviyesinde % 99'luk test gücü sağlanabilmesi ve her grupta hastalardan en az birer diş/implanttan veri toplanacak şekilde belirlendi.

Klinik verilerle birlikte, diş ve implantlardan DOS/POS örnekleri de toplanarak bu sınıflarda kantitatif ve kalitatif analizler yapıldı ve çalışma parametreleri olarak kullanıldı. DOS/POS örnekleri klinik ölçümler aynı bölgeden alındı. Pİ hariç tüm ölçümler DOS/POS toplanmasını takiben yapıldı. Pİ değerlendirmesinden sonra kağıt şeritler (Periopaper[®], Ora Flow Inc., Amityville, NY, USA) kullanılarak DOS/POS toplandı (Şekil 5).



Şekil 5. Kağıt şeritler yardımıyla DOS/POS toplanması

Bu işlem, ilgili bölge rulo pamuklarla tükürükten izole edilip supragingival bölgedeki plak uzaklaştırıldıktan ve hava ile kurutma sağlandıktan sonra, dişeti/periimplant mukozası bölgelerinde yapıldı. Mekanik irritasyon oluşmaması için kağıt bantlar dişeti oluğuna/periimplant sulkusa standart olarak 1 mm kadar sokulup 30 saniye beklendikten sonra sulkustan çıkartıldı. Kanla kontamine olan örnekler kullanılmamış, bu durumda sıvı toplama işlemi tekrarlandı (Şekil 5). Toplanan DOS/POS miktarları (DOS/POSh) otomatik hacim ölçüm cihazı (Periotron® 8000, Pro Flow Inc., Amityville, NY, USA) yardımıyla total µl olarak belirlendikten sonra örnekler biyokimyasal analizler yapılncaya kadar -80°C'de saklandı (Şekil 6). Nöropeptit değerleri nanogram olarak tanımlanmış periotron değerleriyle elde edilen hacim cihazın kendi konvertör değerleriyle orantılandırılarak ng/ml konsantrasyon değerleri tespit edildi.



Şekil 6. Periotron® 8000 Cihazı

Çalışma parametreleri olarak grupların oluşturulması sırasında toplanan klinik veriler, DOS/POSh ve DOS/POS'taki SP, NKA, CGRP ve NPY nöropeptidlerinin

seviyeleri kullanıldı. Araştırmaya ait tüm klinik veriler ve DOS/POS örnekleri aynı araştırmacı tarafından toplandı.

3.4. Laboratuvar İşlemleri

3.4.1. DOS/POS Elüsyonu

Elüsyon işlemine geçmeden önce Ependorf tüpleri özel olarak hazırlandı ve 1.5 ml'lik Ependorf tüpleri içine, DOS/POS toplanan kağıt şeritlerin bulunduğu 0.5 ml'lik Ependorf tüpleri konuldu. Kağıt şeritlerin bulunduğu tüpe önceden çalışılacak analiz yöntemi kitinin içinde bulunan özel fosfatlanmış serum fizyolojik solüsyonu (PBS) 150 µl eklenerek +4 derecede inkübasyona bırakıldı. Daha sonra bu tüpün alt kısmına steril enjektör ucuyla PBS'nin sızabileceği bir delik açıldı ve +4 derecede 10 dakika süreyle 10000 devir/dak.'lık santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Bu işlem bir kez daha tekrarlanarak toplam 300 µl elüsyon sıvısı elde edildi. Santrifüj işlemi sonucunda 0.5 ml tüp çıkartılarak 1.5 ml tüpe süzülen 300 µl sıvı homojen karışması için vortekslendi ve her birinde 50 µl örnek sıvı olacak şekilde 4 ayrı tüpe pipetlendi (Şekil 7).



Şekil 7. Laboratuvar çalışması öncesi hazırlanan Ependorf tüpleri

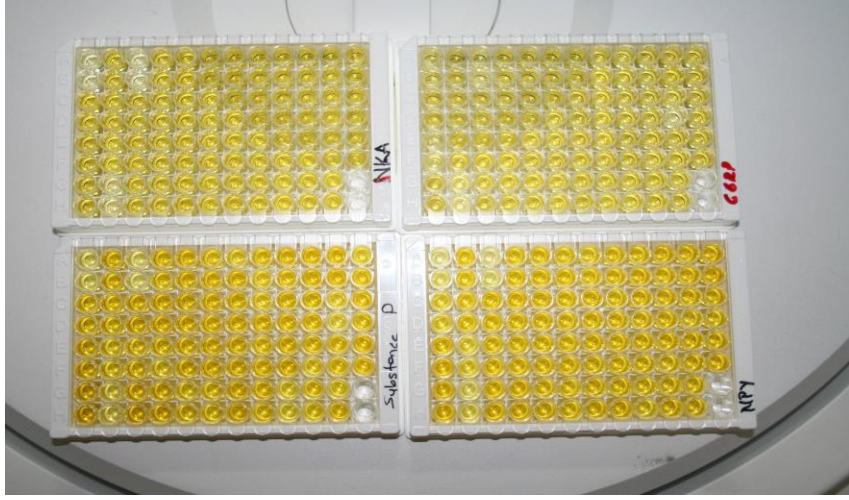
3.4.2 Örneklerin Analizi



Şekil 8. Kullanılan ELISA kitleri

Sıvı örneklerde SP, NKA, CGRP ve NPY seviyelerinin tespiti ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemiyle, aynı firmaya ait kitler (Phoenix Pharmaceuticals Inc., Burlingame, CA, USA) kullanılarak aşağıda belirtildiği şekilde yapıldı (Şekil 8,9):

1. Blank hariç kalibratör, kontrol ve numuneler 50 µl kendi kuyucuklarına pipetlendi
2. Blank hariç her kuyucuğa 25 µl primer antikor konuldu
3. Blank hariç her kuyucuğa 25 µl biotinlenmiş peptid konuldu
4. Oda ısısında (20-23 °C) 2 saat titreşimli inkübasyona bırakıldı
5. 350 µl hacimde 4 kez buffer ile yıkama yapıldı
6. Her kuyucuğa 100 µl SA-HRP (streptavidin-horse radish peroxidase) eklendi
7. Oda ısısında (20-23 °C) 1 saat titreşimli inkübasyona bırakıldı
8. 350 µl hacimde 4 kez buffer ile yıkama yapıldı
9. Her kuyucuğa 100 µl TMB eklendi
10. oda ısısında (20-23 °C) 1 saat titreşimli inkübasyona bırakıldı
11. Her kuyucuğa 100 µl STOP (2N HCL) eklendi
12. "Plate reader" ile 450 nm'de okundu



Şekil 9. “Plate Reader” ile okunan tüm ELISA plakaları

Tüm laboratuvar işlemleri deney prosedürü hakkında bilgi sahibi olmayan kör araştırmacı tarafından yapıldı.

3.5. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler için bir bilgisayar paket programı kullanıldı (SPSS for Windows 16.0). Ölçüme dayalı verilerin normal dağılım gösterip göstermediği *Shapiro-Wilk* testiyle belirlendi. Normal dağılım gösteren verilerde gruplararası farklılık *Tukey çoklu karşılaştırma* testi ve gruplararası karşılaştırmaları *Student-t* testi ve *Eşli karşılaştırma* testi ile analiz edildi. Normal dağılım göstermeyen verilerde gruplararası farklılık *Kruskal Wallis H* testiyle ve gruplararası karşılaştırmaları *Mann Whitney U* ve *Wilcoxon* testiyle analiz edildi. Parametrelerarası ilişkiler *Pearson korelasyon* testi ve *Kendall-TAU korelasyon* testi ile belirlendi. Grup değerleri “ortalama \pm standart sapma” ve “ortanca (minumum-maksimum)” şeklinde verildi. İstatistiksel anlamlılık sınırı “ $p < 0,05$ ” olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışma popülasyonu, yaş ortalaması 44.61 ± 6.76 olan toplam 39 bireyden oluştu. Çalışma grupları ise; 13'ü sağlıklı periodontal/periimplant dokulara, 13'ü gingivitis/periimplant mukozitisli ve 13'ü de periodontitis/periimplantitisli diş/implantlara sahip bireylerden oluşturuldu. Bu bireyler arasında yaş ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p= 0.998$). Her bir çalışma grubu, her bireyde bir diş ve bir implant olacak şekilde 13'er dişi/implantı içerdi ve toplam olarak 39 diş ve implanttan alınan veriler değerlendirildi.

4.1. Klinik Bulgular

Klinik verilerin gruplararası ve ikili grup karşılaştırmaları Tablo 1 ve 2'de verilmiştir.

Tablo 1. Klinik verilerin gruplara göre dağılımı

Parametreler	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
	n= 13	n= 13	n= 13	n= 13	n= 13	n= 13
Pİ (skor)	0 (0-0)	0 (0-0)	2 (2-2)	2 (2-2)	3 (2-3)	3 (3-3)
Gİ (skor)	0 (0-0)	0 (0-0)	2 (2-2)	2 (2-2)	3 (2-3)	3 (3-3)
SK (±)	13 (-)	13 (-)	13 (+)	13 (+)	13 (+)	13 (+)
CD (mm)	2 (1-2)	2 (1-2)	3 (3-3)	3 (3-3)	4 (4-5)	5 (4-5)
KAK (mm)	2 (1-2)	2 (1-2)	3 (2-3)	3 (3-3)	5 (5-7)	6 (5-7)
DOS/POSh (µl)	0,43 (0,09-0,66)	0,57 (0,16-0,74)	0,97 (0,86-0,17)	1,17 (1,05-1,31)	1,96 (1,84-2,2)	2,18 (1,95-2,41)

Kruskal-Wallis H testi, tüm gruplar için $p < 0,001$

Grup değerleri ortanca (minimum-maksimum) olarak verilmiştir

Tablo 2. Bağımlı diş/implant gruplarında klinik verilerin ikili karşılaştırması

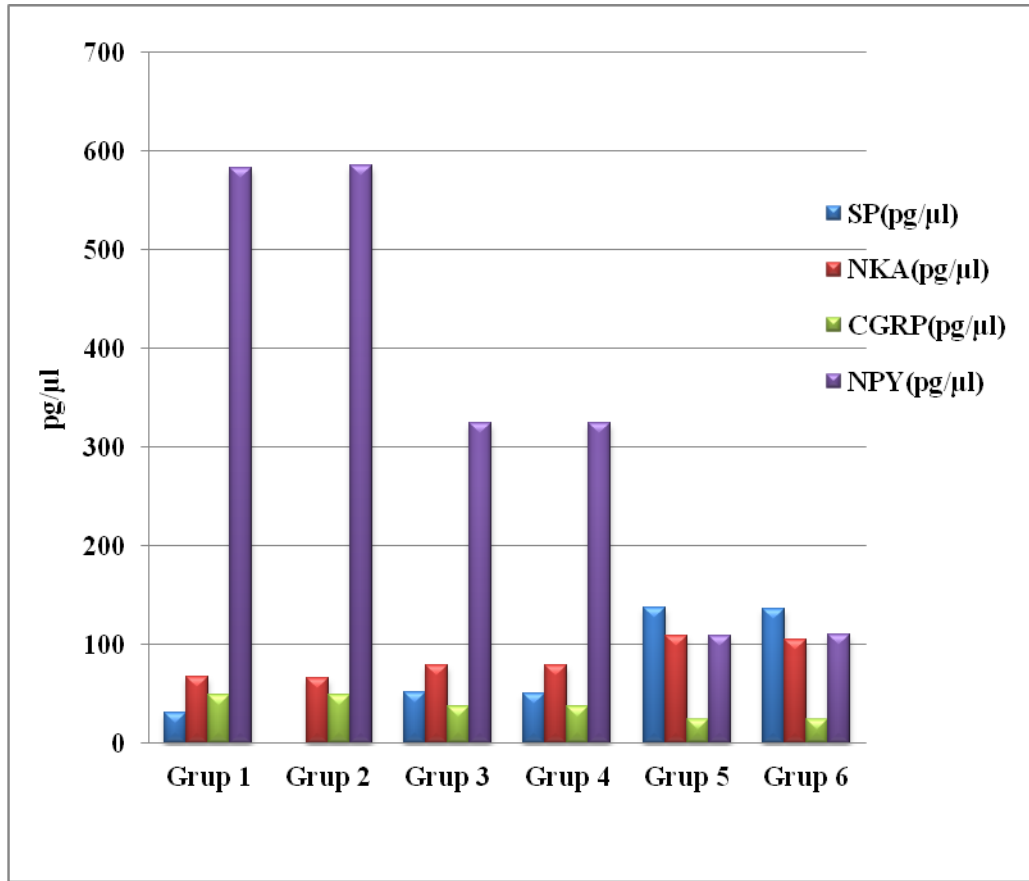
Parametreler	Gruplar n= 13	<i>p</i> değeri (<i>Wilcoxon testi</i>)
Pİ	Grup 1- 2	1,000
	Grup 3- 4	1,000
	Grup 5- 6	0,083
Gİ	Grup 1-2	1,000
	Grup 3-4	1,000
	Grup 5-6	0,083
SK	Grup 1-2	0,317
	Grup 3-4	1,000
	Grup 5-6	0,075
CD	Grup 1-2	1,000
	Grup 3-4	1,000
	Grup 5-6	1,000
KAK	Grup 1-2	0,317
	Grup 3- 4	0,317
	Grup 5-6	0,034*
DOS/POSh	Grup 1- 2	0,116
	Grup 3-4	0,002*
	Grup 5- 6	0,009*

*= $p < 0,05$

Buna göre, klinik verilerde gruplararası istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edildi. Bağımlı grupların ikili kıyaslamasında ise, grup 3 (gingivitis grubu) ve grup 4 (periimplant mukozitis grubu) arasında DOS/POSh; grup 5 (periodontitis grubu) ve grup 6 (periimplantitis grubu) arasında hem DOS/POSh hem de KAK değerlerinde implant grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görüldü. Bağımsız grupların ikili kıyaslamasında ise tüm gruplararası istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p < 0.001$).

4.2. ELISA Bulguları

DOS/POS'ta nöropeptid düzeylerinin gruplara göre dağılımı ve gruplararası farklılık Şekil 10 ve Tablo 3'te verilmiştir.



Şekil 10. Nöropeptid seviyelerinin gruplara göre dağılımı

Tablo 3. Nöropeptid seviyeleri ve gruplararası farklılığın karşılaştırması

Parametreler	Grup 1 n= 13	Grup 2 n= 13	Grup 3 n= 13	Grup 4 n= 13	Grup 5 n= 13	Grup 6 n= 13
SP (pg/μl)	31,24 ± 2,83	30,07 ± 2,31	51,25 ± 5,23	51,05 ± 4,97	137,57 ± 7,02	135,68 ± 5,80
NKA (pg/μl)	67,59 ± 3,00	66,34 ± 2,77	79,32 ± 3,48	78,77 ± 4,03	109,32 ± 4,61	105,59 ± 4,27
CGRP (pg/μl)	48,99 ± 0,78	48,79 ± 1,47	37,05 ± 1,43	37,29 ± 1,40	23,92 ± 2,45	23,93 ± 1,80
NPY(pg/μl)	583,11 ± 13,58	585,85 ± 11,19	324,91 ± 21,99	324,20 ± 25,03	108,33 ± 18,13	110,03 ± 17,78

Tukey çoklu karşılaştırma testi, tüm gruplar için $p < 0,001$

Grup değerleri ortalama±standart sapma olarak verilmiştir

Buna göre, nöropeptid düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Grupların ikili karşılaştırmaları ise Tablo 4, 5, 6 ve 7’de verilmiştir.

Tablo 4. SP seviyelerinin ikili karşılaştırması

Gruplar	<i>p</i> değeri
Grup 1 – 2	0.341 (<i>Eşli karşılaştırma testi</i>)
Grup 1 – 3	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 1 – 4	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 1 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 1 – 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 3	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 4	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 3 – 4	0.886 (<i>Eşli karşılaştırma testi</i>)
Grup 3 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 3 – 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 4 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 4 – 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 5 – 6	0.254 (<i>Eşli karşılaştırma testi</i>)

Tablo 5. NKA seviyelerinin ikili karşılaştırması

Gruplar	<i>p</i> değeri
Grup 1 – 2	0.114 (<i>Eşli karşılaştırma testi</i>)
Grup 1 – 3	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 1 – 4	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 1 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 1 – 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 3	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 4	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 3 – 4	0.765 (<i>Eşli karşılaştırma testi</i>)
Grup 3 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 3 – 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 4 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 4 – 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 5 – 6	0.01 (<i>Eşli karşılaştırma testi</i>)

Tablo 6. CGRP seviyelerinin ikili karşılaştırması

Gruplar	<i>p</i> değeri
Grup 1 – 2	0.652 (<i>Eşli karşılaştırma testi</i>)
Grup 1 – 3	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 1 – 4	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 1 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 1 – 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 3	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 4	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 - 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 3 - 4	0.473 (<i>Eşli karşılaştırma testi</i>)
Grup 3 - 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 3 - 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 4 - 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 4 - 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 5 - 6	0.993 (<i>Eşli karşılaştırma testi</i>)

Tablo 7. NPY seviyelerinin ikili karşılaştırması

Gruplar	<i>p</i> değeri
Grup 1 – 2	0.416 (<i>Eşli karşılaştırma testi</i>)
Grup 1 – 3	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 1 – 4	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 1 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 1 – 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 3	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 4	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 2 – 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 3 – 4	0.867 (<i>Eşli karşılaştırma testi</i>)
Grup 3 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 3 – 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 4 – 5	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 4 – 6	<0.001 (<i>Student t testi</i>)
Grup 5 – 6	0.614 (<i>Eşli karşılaştırma testi</i>)

Buna göre, bağımlı gruplararası kıyaslamada sadece Grup 5 (periodontitis grubu) ve Grup 6 (periimplantitis grubu) arasında NKA değerleri için diş grubu lehinde anlamlı bir farklılık bulundu. Diğer tüm gruplardaki tüm parametrelerde anlamlı bir fark tespit edilemedi.

SP; NKA ile pozitif bir korelasyon gösterirken, CGRP ve NPY ile negatif korelasyon göstermiştir. SP ile klinik verilerimizin ilişkisi değerlendirildiğinde ise; Pİ, Gİ, SK, CD, KAK ile SP arasında pozitif korelasyon görüldü.

NKA; SP ile pozitif bir korelasyon gösterirken, CGRP ve NPY ile negatif korelasyon göstermiştir. NKA ile klinik verilerimizin ilişkisi değerlendirildiğinde ise; Pİ, Gİ, SK, CD, KAK ile NKA arasında pozitif korelasyon görüldü.

CGRP, NPY ile pozitif korelasyon gösterirken, SP ve NKA ile negatif korelasyon göstermektedir. CGRP ile klinik verilerimizin ilişkisi değerlendirildiğinde ise; Pİ, Gİ, SK, CD, KAK ile CGRP arasında negatif korelasyon görüldü.

NPY, CGRP ile pozitif korelasyon gösterirken, SP ve NKA ile negatif korelasyon göstermektedir. NPY ile klinik verilerimizin ilişkisi değerlendirildiğinde ise; Pİ, Gİ, SK, CD, KAK ile NPY arasında negatif korelasyon görüldü.

Tüm klinik parametreler arası ilişkiler incelendiğinde (Pİ, Gİ, SK, CD, KAK ve DOS/POS), her biri arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir.

Tüm çalışma parametreleri arasındaki ilişki Tablo 8'te verilmiştir.

Tablo 8. Nöropeptid düzeyleri ve klinik parametreler arasındaki ilişkinin karşılaştırması

	NKA	CGRP	NPY	Pİ	Gİ	CD	DÇ	SK	KAK	DOS/POSh
SP	0.976*	-0.947*	-0.920*	0.792**	0.766**	0.774**	0.636**	0.671**	0.768**	0.644**
NKA		-0.964*	-0.945*	0.777**	0.773**	0.770**	0.651**	0.669**	0.760**	0.652**
CGRP			0.990*	-0.786**	-0.775**	-0.795**	-0.622**	-0.673**	-0.778**	-0.727**
NPY				-0.787**	-0.780**	-0.797**	-0.640**	-0.671**	-0.787**	-0.705**
Pİ					0.923**	0.928**	0.732**	0.818**	0.904**	0.795**
Gİ						0.916**	0.747**	0.818**	0.904**	0.813**
CD							0.749**	0.773**	0.967**	0.837**
DÇ								0.472**	0.795**	0.637**
SK									0.751**	0.671**
KAK										0.814**

*: Pearson korelasyon testi, **: Kendall-TAU korelasyon testi (r değerleri)

Tüm parametreler için $p < 0.001$

5. TARTIŞMA

Çağdaş Diş hekimliğinde total veya parsiyel diş eksikliklerinin rehabilitasyonu için dental implantlar sıklıkla tercih edilmektedir. Ancak, uygulanan implant sayısındaki artışla birlikte periimplant hastalıkların görülme sıklığı da doğru orantılı olarak artmıştır. Tedavi gereksinimi artan bu hastalıkların etiyojisi, patogenezi ve tanısı ile ilgili araştırmalar da hız kazanmıştır (Heitz-Mayfield, 2008; Lindhe ve ark., 2008; Zitzmann ve Berglundh, 2008).

İmplantın bir diş gibi fonksiyon görmesine imkan verecek şekilde periimplant dokuların hem yapısal hem de fonksiyonel olarak periodontal dokuları taklit etmeye çalıştığı ve bu anlamda periimplant dokularla periodontal dokular arasında bazı benzerlikler olduğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan deneysel ve klinik çalışmalarla periimplant hastalıklarla periodontal hastalıkların patogenezi ve patolojisi arasında da aynı şekilde benzerlikler olduğu gösterilmiştir (Berglundh ve ark., 2011). Periimplant mukozitiste periimplant dokulardaki bakteriyel birikime verilen konak cevabı temel olarak gingivisteki konak cevabına benzerlik gösterir. Periimplantitis ve periodontitis klinik özellikler yönünden genel olarak benzerlikler gösterse de, periimplant/periodontal dokulardaki yapısal farklılıklar implant ve diş arasında enfeksiyona karşı gösterilen konak yanıtını da farklı kılabilmektedir. Bu iki tip lezyon arasındaki farkların incelenmesi teşhis ve tedavi protokol planının oluşturulması açısından önem arz etmektedir (Berglundh ve ark., 2011).

Son yıllarda vücuttaki herhangi bir dokuda enflamasyon oluştuğunda meydana gelen değişikliklerin belirli nöral mekanizmalara bağlı olabileceği, bu mekanizmaların sinir fibrilleri üzerindeki etkileri ve sinir fibrillerinden dokular arasına salgılanan mediyatörlerin doku üzerindeki etkilerinin araştırılması, oluşmuş enflamasyonun ve ağrının önlenmesinde yeni farmakolojik ajanların bulunabileceği görüşüne yeni bir bakış açısı getirmiştir (Delgado ve ark., 2004). Önemli nörojenik mediyatörler olarak bilinen nöropeptidlerin enflamatuvar sürecin düzenlenmesinde de kritik bir yere sahip olduğu ve “nörojenik enflamasyon” olarak adlandırılan bu lokal peptiderjik innervasyon mekanizmasının enflamatuvar hastalıkların aktif bir belirleyicisi olduğu kabul edilmektedir (Jansco ve ark., 1967; Bartold ve ark., 1994).

Periodontal dokular trigeminal sinirin maksiller ve mandibular dallarının sensör demetleri ve çoğunlukla kan damarları ile yakın ilişkide bulunan miyelinli sinirler

tarafından innerve edilirler. Vücutun diğer dokuları gibi periodonsiyum da ağrı, dokunma ve basınç reseptörleri içerir. Periodonsiyumun duyuşal reseptörlerine ek olarak, sinir komponentlerinin bu bölgedeki kan damarlarını da innerve ettiği bulunmuştur (Lindhe, 2008). Fujii ve ark. 2003 yılında immünohistokimyasal teknikler kullanarak ratlarda yaptıkları deneysel implant çalışmasında, osseointegrasyon sürecinde periimplant epitelde oluşun sinir fibrillerinin normal birleşim epiteli ile aynı oranda ya da daha az düzeyde oluştuğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar bu bulgular ışığında periimplant epitelinin normal birleşim epiteli ile aynı innervasyona ve fonksiyona sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Gingivitisli ve periodontitisli hastaların etkilenmiş bölgelerinden alınan dokulardaki nörokimyasal belirteçlerin dağılımı, Luthman ve ark. (1989) ve Bartold ve ark.'nın (1994) nöropeptidlerin periodontitisin patogenezindeki olası rolünü açıklamalarına imkan vermiştir. Peptiderjik nöronların dişetini uyarması (Luthman ve ark. 1988, 1989) ve DOS'taki nöropeptitlerin tanımlanması ile (Linden ve ark. 1997/2002, Lundy ve ark. 1999/2000, Hanioka ve ark. 2000) periodontitis ve diğer orafasiyal enflamatuvar bozuklukların belirli nöropeptid dengesizlikleri sonucu ortaya çıktığına dair kanıtlar günden güne artmaktadır. Hansen ve ark. 2006 yılında yapmış oldukları *in vitro* çalışmada, SP ve NPY nin çeşitli mantar ve bakteri türleri üzerinde antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Bu nöropeptidlerin bakteriler üzerinde direkt bir antimikrobiyal etkiye sahip olmadığı anlaşılmıştır. Ancak bu nöropeptidlerin, lokal epitel hücrelerini uyararak doğal bağışıklık faktörlerinin bu hücrelerden salınımına sebep olup indirekt antimikrobiyal etki edebileceği düşünülmektedir.

Günümüzde, periodontal hastalıklarda (gingivitis ve periodontitis) nörojenik enflamasyonla ilgili belirli düzeyde bilgi olmasına rağmen, periimplant hastalıklar (periimplant mukozitis ve periimplantitis) ile ilgili henüz yeterli veri bulunmamaktadır. Abd-El Aleem ve ark.'ları 2004 yılında sıçanlarda yaptıkları deneysel çalışmada, mandibular azı dişlerinde LPS ile indüklenen periodontal hastalık sonrası sağ ve sol trigeminal gangliyon ile beyinde β -preprotaşikininin ve α -CGRP mRNA'larını incelemişler; her iki nöropeptid mRNA'sının gangliyonun mandibular bölgesinin sadece küçük bir bölümünde anlamlı şekilde arttığını gözlemlemişlerdir. SP ve CGRP mRNA upregülasyonunun nosisepsiyondan daha çok periodontal hastalıktaki enflamatuvar süreçle ilişkili olduğu ve bunun yanı sıra hastalığın sıçanlarda ve

insanlarda nosisepsiyonda bir değişikliğe neden olmadığı kanısına varmışlardır. Sonuç olarak, nöropeptid mRNA'larının karşılıklı değişikliklerinin periodontal hastalık gelişimindeki nörojenik mekanizmalarla ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Gaspersic ve ark. 2010 yılında yapmış oldukları ligatür indüklü deneysel periodontitis modeli çalışmasında, duyuşal nöronlarda nöropeptid salınımını arttırdığı bilinen NGF (sinir büyüme faktörü) antagonisti olan anti-NGF lokal uygulamasının periodontitise bağlı kemik yıkımını ve periodonsiyum ile savunma hücrelerinde IL-1 β ekspresyonunu azalttığını bulmuşlardır. Bu nedenle anti-NGF'nin, periodontal hastalık tedavisinde konak yanıtını düzenleyici bir ajan olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir.

Bununla birlikte, periimplant hastalıklarda bilinen nöropeptidlerin rollerinin/etkilerinin incelendiği ve karşılaştırıldığı araştırmalar da hayvan çalışmalarıyla sınırlı kalmıştır. Yamaza ve ark. 2008 yılında sıçanlarda SP ve NKA reseptörlerinin periimplant epitelde, sağlıklı dişetine benzer şekilde nörojenik enflamasyona yanıt olarak ağrının iletiminde, nötrofil endositozunda, POS akışında, makrofaj ve nötrofil migrasyonunda rolü olabileceğini ifade etmişlerdir. Onur ve ark. 2006 yılında yine sıçanlarda, pürüzlü ve parlak titanyum implant yüzeylerinin *in vivo* ve *in vitro* olarak fizyolojik limitler dahilinde benzer nöral yanıtı neden olduklarını bildirmişlerdir. Bu bilgiler ışığında, konuyla ilgili insan çalışmalarının yetersiz oluşu ve, periimplant dokuların nöropeptidlerle ve nörojenik enflamasyonla ilişkisinin daha önce değerlendirilmemiş olması hipotezimizi oluştururken bize rehber olmuştur.

Sistemik hastalıklar, konağın savunma mekanizmasını etkileyebilmekte ve çoğunlukla düzenli ilaç kullanımını gerektirmektedir. Bu durum tedaviye yanıtı değiştirdiğinden sistemik sağlıklı bireyler çalışmamıza dahil edildi. Hasta gruplarımız oluşturulurken; periodontal/periimplant dokuların sağlıklı, gingivitis/mukozitis ve periodontitis/periimplantitis durumlarında nörojenik katkının seviyesini değerlendirebilmek amacıyla 3 grup oluşturuldu.

Çalışmamızın temel amaçlarından biri de oluşturulan bu grupların kendi içlerinde diş ve implant çevresi dokuların nörojenik faktörlerce etkilenme açısından bir farklılık gösterip göstermediğini ortaya koyabilmek olduğu için, gruplar 2 alt gruba daha ayrıldı. Ayrıca, 0.05 önem seviyesinde %99 test gücü sağlanabilmesi için her grupta randomize edilmiş 13 implant ve 13 diş olacak şekilde çalışma gruplarının oluşturulması yeterli oldu.

DOS hacminin artışı ve içeriğindeki değişimler sağlıktan hastalığa geçişte dokularda oluşan enflamatuvar cevabın değerlendirilmesi açısından klinik parametrelerin yanında periodontal hastalık teşhisinin önemli bir bulgusu olarak bildirilmiştir (Offenbacher ve ark. 1993). DOS ve tükürük gibi periferik vücut sıvıları akut ve kronik enflamasyon belirleyicilerini tespit etmekte kullanılmışlardır (Nicolodi ve Del Bianco, 1990). Dolayısıyla çalışmamız planlanırken, POS' nın değerlendirilmesinin de hastalık teşhisinde önemli bir bulgu olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda, gingivitisli/mukozitisli ve periodontitis/periimplantitisli gruplardaki POSh DOSh'den daha yüksek bulundu. Ayrıca, tüm klinik parametrelerimizle DOS/POS hacimlerinin pozitif bir korelasyon gösterdiği tespit edildi. Daha önce yapılmış çalışmalarda da bizim sonuçlarımıza benzer olarak periimplant dokuların enflamatuvar durumuyla uygunluk gösteren POS hacminde artış tespit edilmiştir (Tözüm ve ark., 2007; Güncü ve ark., 2008). KAK periimplantitis grubunda periodontitisli dişlere oranla istatistiksel olarak daha yüksek bulunmasına rağmen, CD'de istatistiksel anlamda bir fark görülmedi. Dolayısıyla KAK'taki bu fark dişeti/periimplant mukoza çekilmelerinin benzer düzeyde olmamasından kaynaklanmıştır. Bu nedenle, daha önceden literatürde belirtilmesine rağmen, periimplant mukozanın penetrasyona daha dirençsiz olmasından kaynaklanabilecek herhangi bir ölçüm farkına (Silverstein ve ark., 1994) bizim çalışmamızda rastlanmamıştır.

SP, periodontal dokulardaki nörojenik enflamasyonda önemli rol oynamakta olup, DOS/POS içerisindeki SP seviyesinin periodontal enflamasyon ve konak cevabı için bir potansiyel indikatör olabileceği gösterilmiştir (Lundy ve ark., 2000; Hanioka ve ark., 2000; Sakallıoğlu ve ark., 2008). Bizim çalışmamızda, SP değerleri literatürle uyumlu olarak sağlıktan hastalığa geçildikçe artış gösterdi. Bağımlı gruplar içindeki diş ve implant örneklerinde ise anlamlı bir fark gözlenmedi. Linden ve ark. periodontal sağlıkta ve hastalıkta SP ve NKA nöropeptidlerinin rollerini araştırmak için 1997 yılında yaptıkları klinik çalışmada, DOS içerisindeki SP ve NKA düzeylerini periodontal hastalıkta daha yüksek bulmuşlar ve bu iki taşikininin periodontal hastalıkla bir ilişkisi olabileceğine dikkati çekmişlerdir. Bizim bulgularımız da Linden ve ark. bulgularıyla uyumluluk göstermekte olup aynı durumun periimplant hastalıklarda da söz konusu olabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca, Lundy ve ark. 2000 yılında SP ve NKA

taşıkininlerinin periodontal tedavi öncesi ve sonrası durumu değerlendirmek üzere yaptıkları klinik çalışmada, tedavi sonrası periodontal dokularda enflamasyonun azalmasıyla, DOS içeriğinde bu iki nöropeptid seviyelerinin de azaldığını rapor etmişlerdir. Periodontal dokularda konak yanıtının, SP taşıkinini ile ilişkisini araştırdığı klinik çalışmasında Hanioka ve ark., SP ile DOS için periodontal enflamasyon ve konak yanıtında birer indikatör rolü üstlenme potansiyeline sahip olabileceklerine işaret etmişlerdir (2000). Bizim çalışmamızda da aynı şekilde periodontal hastalık düzeyinde artış meydana geldiğinde, SP ve DOS seviyeleri ile doğru orantılı artışlar gözlemlendi. Çalışma parametrelerimizin birbiriyle olan ilişkileri değerlendirildiğinde de SP'nin NKA ve klinik verilerimizin tümüyle pozitif korelasyon göstermesi, literatürü destekler şekilde, bu nöropeptidin periodontal hastalıkların patogenezi ve patolojisindeki rolünü ortaya koymaktadır.

NKA taşıkinini, miyelinsiz C tipi sensör fibrillerinin sekretuar granüllerinde depolanır ve bu peptidin periferik sinir uçlarından salınımı nörojenik enflamasyonla sonuçlanmaktadır (Lembeck ve Holzer., 1979). Pro-enflamatuvar potansiyeli olan bu taşıkinin, kompleks bir patofizyolojiye sahip periodontal hastalıklarda da hastalığın başlamasına ve ilerlemesine sebep olan nörojenik etkenlerden biri olabileceği düşünülebilir. Bizim çalışma bulgularımızla örtüşür şekilde, birçok çalışmada hastalıklı periodonsiyumdan alınan örneklerdeki NKA nöropeptid miktarları sağlıklı dokulara oranla daha yüksek bulunmuştur (Lundy ve ark., 2000; Linden ve ark.,1997). NKA ile SP arasındaki pozitif korelasyonun bu iki nöropeptidin, birçok etkeni olan periodontal hastalıklar için önemli birer pro-enflamatuvar etken olduğuna işaret ettiğini söyleyebiliriz. Ayrıca çalışmamızdaki, NKA ile tüm klinik veriler arasındaki pozitif korelasyon da bu yorumumuzu desteklemektedir.

Çalışma bulgularımız CGRP düzeylerinin sağlıklı durumda daha yüksek olduğu, hastalıkla birlikte düzeylerinde anlamlı bir azalma meydana geldiğini gösterdi. Yine, diğer nöropeptidlerle ilişkisi incelendiğinde CGRP'nin NPY ile pozitif, SP ve NKA ile negatif bir korelasyon içinde olduğu görüldü. CGRP ile klinik verilerimizin ilişkisi değerlendirildiğinde ise tümüyle arasında negatif bir korelasyon tespit edildi. CGRP, kalsitonin geni mRNA transkripsiyonunun alternatif işlevi sonucu üretilen peptiderjik innervasyonun başka bir nöropeptididir. Nörojenik özelliği olmayan çeşitli doku hücreleri ve mast hücrelerinden de salınımı gerçekleşebiliyor olsa da genellikle

duyusal sinirlerin periferel uçlarında SP ile birlikte, SP'nin nörojenik enflamasyondaki etkilerini ve salınımını kontrol etmek için bulunur (Maggi, 1995; Lundy ve ark., 1999). Sakallıoğlu ve ark. 2008 yılında sigara içen ve içmeyen bireylerde sağlıklı ve hastalıklı periodontal dokuların lokal peptiderjik innervasyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında, sigaranın periodontitis varlığında lokal peptiderjik innervasyonu artırmak suretiyle nörojenik enflamasyonu etkileyebilmekte olduğunu ve SP için periodontitis indikatörü olarak görülebileceğini ayrıca, CGRP'nin akut ya da başlangıç periodontal enflamasyonda önemli rol aldığını bildirmişlerdir. Lundy ve ark. 2000 yılında anti-enflamatuvar nöropeptid CGRP'nin hızlı ve selektif azalmasının, SP ve NKA'dan farklı olarak, periodontal enflamasyondaki nöropeptidlerin proenflamatuvar etkilerini artırdığını bildirmişlerdir.

CGRP nöropeptidinin osteogenezi uyarıp, osteoklastik kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiğinin bilinmesi, bu nöropeptidin azalmasının periodontal yıkımla ilişkilendirilebileceğini göstermektedir (Konttinen ve ark. 1996). İmai ve Matsusue 2002 yılında transjenik farelerde yaptıkları çalışmada, CGRP'nin *in vitro* ortamda kültüre edilen osteoblastlar üzerindeki etkileri ve buna *in vivo* olarak lokalizasyonları da eklendiğinde, sinir sisteminin kemik metabolizması ile ilişkilendirilmesinin kaçınılmaz olduğunu bildirmişlerdir. Aşırı CGRP eksprese eden osteoblastlara sahip farelerde artmış kemik formasyonu ve hacminin sadece sinirsel olarak değil, otokrin döngü ile de sağlanabildiği kanısına varmışlardır. Nöropeptidlerin kemik metabolizması üzerindeki etkisini açıklayan başka bir çalışmada ise, 1993 yılında Hukkanen ve ark. travma bölgesindeki kemik tamirini inceledikleri deneysel hayvan modelinde, CGRP içerikli duyusal innervasyonun tamir bölgesinde vasküler kontrol, anjiyogenez ve osteogenez üzerinde etkileri nedeniyle kemik iyileşmesi ve yeniden şekillenmesi mekanizmalarının nöral ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da kemik kaybı görülen periodontitis/periimplantitis grubunda CGRP seviyesi en düşük olarak bulundu ve CGRP azalmasının devam eden kemik kaybı ile ilişkilendirilebileceği kanısına varıldı.

Lundy ve ark. 2000 yılında periodontal hastalıktaki DOS-CGRP ilişkisini inceledikleri çalışmalarında, periodontitis hastalarında SP ve NKA'nın yıkılmayıp sadece anti-enflamatuvar nöropeptid CGRP'nin selektif olarak karboksipeptidazlar tarafından hızlı şekilde yıkılmasını, periodontal enflamasyonun oluşumunda bu enzimin patofizyolojik rolü olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bizim bulgularımızda da CGRP

seviyelerinin sağlıklı gruplarda daha fazla olup, hastalık şiddeti ile ters orantılı şekilde değiştiği görüldü. Bu duruma sebep olarak akla gelen CGRP fonksiyonu da, SP ile aralarındaki daha önce yukarıda açıklanan kontrol mekanizmasıdır.

Çalışmamızda NPY seviyeleri sağlıklı gruplarda daha fazla olup, hastalık şiddetlendikçe NPY düzeylerinde azalma gözlemlendi. Diğer nöropeptidlerle ilişkisi göz önüne alındığında ise NPY, CGRP ile pozitif korelasyon gösterirken, SP ve NKA ile negatif bir korelasyon gösterdi. NPY ile klinik verilerimizin ilişkisi değerlendirildiğinde de tüm parametrelerle NPY arasında negatif bir korelasyon görüldü. NPY, kemikte en çok bulunan nöropeptid olup, son yıllarda sert dokulardaki yapım ve yıkım arası dengenin sağlanmasında görev yaptığı ortaya konmuştur (Haug ve Heyeraas, 2006). Periodontal sağlık ve hastalıkta NPY ile ilgili sınırlı veri mevcut olup, 2009 yılında Lundy ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada NPY'nin, periodontitis patogenezinin ana dalları olan enflamasyon koordinasyonu ve kemik metabolizması üzerindeki etkileri araştırılmış ve sağlıklı dokularda hastalıklı dokulara oranla daha yüksek seviyelerde bulunduğu bildirilmiştir.

Literatürde DOS içeriğinde SP, NKA, CGRP ve NPY nöropeptidlerinin biyokimyasal olarak incelendiği çalışmalar olmakla birlikte bu nöropeptidlerin tamamının birbirleriyle ilişkisi ve bu markırların POS içeriğindeki varlığı incelenmesi ile ilgili yeterli düzeyde veri bulunmamaktadır. Dolayısıyla POS'ta nöropeptidlerle ilgili bulgularımız detaylı olarak herhangi bir çalışma ile karşılaştırılmadı. Bağımlı gruplarda (sağlıklı diş/sağlıklı implant, gingivitis/periimplant mukozitis, periodontitis/periimplantitis) klinik veriler (Pİ, Gİ, SK, CD, KAK) açısından anlamlı bir ilişki olduğu ve bu bağımlı gruplarda klinik veriler açısından istatistiksel olarak fark bulunmadığı gözlemlendi. Ancak bağımsız gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu. Tüm gruplardaki klinik parametreler arasında pozitif korelasyon mevcut olduğu görüldü.

Bu bulgular ışığında çalışmamızda; nöropeptid düzeylerinin diş ve implantlar arasında anlamlı bir fark göstermemesinin ve sağlıklı, gingivitis/periimplant mukozitis ve periodontitis/periimplantitis grupları arasında anlamlı farklar görülmesinin literatürle uyumlu olarak, nöropeptid salınımının periodontal sağlığın önemli bir göstergesi olabileceğine işaret etmekle birlikte, aynı durumun periimplant sağlık için de geçerli olabileceği sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Hastalardan alınan klinik veriler ile DOS hacimleri arasında tüm gruplarda pozitif ilişki bulundu.

2. Periimplant hastalıklardaki nörojenik enflamasyonun rolü/etkisi, patogenezi ve patolojisinin periodontal hastalıklardaki nörojenik enflamasyon süreci ile benzerlik gösterdiği sonucuna varıldı.

3. Çalışmamızda birçok nöropeptidin bir arada kullanılması ile periodontal ve periimplant hastalıklardaki nörojenik enflamasyonla ilgili belirteçlerin ayrı ayrı ve bütüncül rolleri daha açık ortaya konmuş oldu.

4. İmplant materyalinin nörojenik enflamasyona tek başına uyarıcı bir etkisinin olmadığı görüldü.

5. Çalışmamız tasarım olarak kesitsel bir çalışma olduğundan, deney gruplarındaki hastaların tedavilerini takiben bu nöropeptidlerin lokal peptiderjik innervasyon sürecindeki değişimlerinin gözleneceği ileri dönem çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- Abd El-Aleem SA, Morales-Aza BM, Donaldson LF. Sensory neuropeptide mRNA up-regulation is bilateral in periodontitis in the rat: a possible neurogenic component to symmetrical periodontal disease. *Eur J Neurosci.* 2004; 19(3):650-8
- Adriaens PA, Adriaens LM. Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontol 2000.* 2004; 36:121-45.
- Adam C, Llorens A, Baroukh B, Cherruau M, Saffar JL. Effects of capsaicin-induced sensory denervation on osteoclastic resorption in adult rats. *Exp Physiol.* 2000; 85(1):62-6.
- Ahima RS, Kelly J, Elmquist JK, Flier JS. Distinct physiologic and neuronal responses to decreased leptin and mild hyperleptinemia. *Endocrinology.* 1999;140(11):4923-31.
- Akpınar A, Marakoğlu İ. Dişeti oluşu sıvısı ve toplama yöntemleri. *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi,* 2002;5,1: 45-48
- Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol* 1999;70:13-29.
- Albrektsson T, Isidor F. Consensus report of session IV. In *Proceedings of the First European Workshop on Periodontology*, eds. Lang NP & Karring T. London: Quintessence 1994: 365-369.
- Amara SG, Jonas V, Rosenfeld MG, Ong ES, Evans RM. Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNAs encoding different polypeptide products. *Nature.* 1982;298(5871):240-4
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999; 4(1):1-6.
- Arora S, Anubhuti. Role of neuropeptides in appetite regulation and obesity--a review. *Neuropeptides.* 2006; 40(6):375-401.
- Augustine GJ. How does calcium trigger neurotransmitter release? *Curr Opin Neurobiol.* 2001;11(3):320-6.

- Awawdeh LA, Lundy FT, Linden GJ, Shaw C, Kennedy JG, Lamey PJ. Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in gingival crevicular fluid associated with painful human teeth. *Eur J Oral Sci.* 2002;110(3):185-91.
- Azuma H, Kido J, Ikedo D, Kataoka M, Nagata T. Substance P enhances the inhibition of osteoblastic cell differentiation induced by lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol.* 2004;75(7):974-81.
- Baraban SC. Neuropeptide Y and epilepsy: recent progress, prospects and controversies. *Neuropeptides.* 2004;38(4):261-5.
- Barrington R, Zhang M, Fischer M, Carroll MC. The role of complement in inflammation and adaptive immunity. *Immunol Rev.* 2001; 180:5-15.
- Bartold SP, Kylstra A, Lawson R. Substance P: an immunohistochemical and biochemical study in human gingival tissues. A role for neurogenic inflammation? *J Periodontol.* 1994; 65(12):1113-21.
- Bartold SP, Walsh LJ, Narayanan AS. Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontol 2000.* 2000; 24:28-55.
- Bayliss WM. On the origin from the spinal cord of the vaso-dilator fibres of the hind-limb, and on the nature of these fibres. *J Physiol.* 1901 28;26(3-4):173-209.
- Becker W, Becker BE, Newman MG, Nyman S. Clinical and microbiologic findings that may contribute to dental implant failure. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1990; 5(1):31-8.
- Behl Y, Siqueira M, Ortiz J, Li J, Desta T, Faibish D, Graves DT. Activation of the acquired immune response reduces coupled bone formation in response to a periodontal pathogen. *J Immunol.* 2008 15;181(12):8711-8.
- Berglundh T, Lindhe J, Jonsson K, Ericsson I. The topography of the vascular systems in the periodontal and peri-implant tissues in the dog. *J Clin Periodontol.* 1994;21(3):189-93.

- Berglundh T, Zitzmann NU, Donati M. Are peri-implantitis lesions different from periodontitis lesions? *J Clin Periodontol.* 2011;38 Suppl 11: 188-202.
- Bjurholm A, Kreicbergs A, Schultzberg M, Lerner UH. Neuroendocrine regulation of cyclic AMP formation in osteoblastic cell lines and primary bone cells. *J Bone Miner Res.* 1992; 7(9):1011-9.
- Bosman CW, Powell RN. The reversal of localized experimental gingivitis. A comparison between mechanical toothbrushing procedures and a 0.2% chlorhexidine mouthrinse. *J Clin Periodontol.* 1977; 4(3):161-72
- Bouvier M. Oligomerization of G-protein-coupled transmitter receptors. *Nat Rev Neurosci.* 2001;2(4):274-86.
- Brain SD, Williams TJ, Tippins JR, Morris HR, MacIntyre I. Calcitonin gene-related peptide is a potent vasodilator. *Nature.* 1985;313(5997):54-6.
- Brain SD, Williams TJ. Interactions between the tachykinins and calcitonin gene-related peptide lead to the modulation of oedema formation and blood flow in rat skin. *Br J Pharmacol.* 1989;97(1):77-82.
- Brill J, Lee M, Zhao S, Fernald RD, Huguenard JR. Chronic valproic acid treatment triggers increased neuropeptide γ expression and signaling in rat nucleus reticularis thalami. *J Neurosci.* 2006; 26(25):6813-22.
- Byers MR, Taylor PE. Effect of sensory denervation on the response of rat molar pulp to exposure injury. *J Dent Res.* 1993;72(3):613-8.
- Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature.* 1997 Oct 23;389(6653):816-24
- Cerdá-Reverter JM, Larhammar D. Neuropeptide Y family of peptides: structure, anatomical expression, function, and molecular evolution. *Biochem Cell Biol.* 2000;78(3):371-92.
- Da Silva AM, Newman HN, Oakley DA. Psychosocial factors in inflammatory periodontal diseases. A review. *J Clin Periodontol.* 1995; 22(7):516-26.

- Dale N. Reciprocal inhibitory interneurons in the *Xenopus* embryo spinal cord. *J Physiol*. 1985;363:61-70.
- Defea K, Schmidlin F, Déry O, Grady EF, Bunnett NW. Mechanisms of initiation and termination of signalling by neuropeptide receptors: a comparison with the proteinase-activated receptors. *Biochem Soc Trans*. 2000;28(4):419-26.
- Delgado M, Pozo D, Ganea D. The significance of vasoactive intestinal peptide in immunomodulation. *Pharmacol Rev*. 2004; 56(2):249-90.
- Delgado M, Abad C, Martinez C, Juarranz MG, Arranz A, Gomariz RP, et al. Vasoactive intestinal peptide in the immune system: potential therapeutic role in inflammatory and autoimmune diseases. *J Mol Med* 2002; 80: 16–24.
- Dennison DK, Van Dyke TE. The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease. *Periodontol* 2000 1997;14:54-78.
- El-Karim I, Lundy FT, Linden GJ, Lamey PJ. Extraction and radioimmunoassay quantitation of neuropeptide Y (NPY) and vasoactive intestinal polypeptide (VIP) from human dental pulp tissue. *Arch Oral Biol*. 2003; 48(3):249-54.
- Engelberger T, Hefti A, Kallenberger A, Rateitschak KH. Correlations among Papilla Bleeding Index, other clinical indices and histologically determined inflammation of gingival papilla. *J Clin Periodontol*. 1983;10(6):579-89
- Fiorucci S, Distrutti E. Role of PAR2 in pain and inflammation. *Trends Pharmacol Sci*. 2002;23(4):153-5
- Flemmig TF. Periodontitis. *Ann Periodontol*. 1999; 4(1):32-8.
- Fujii N, Ohnishi H, Shirakura M, Nomura S, Ohshima H, Maeda T. Regeneration of nerve fibres in the peri-implant epithelium incident to implantation in the rat maxilla as demonstrated by immunocytochemistry for protein gene product 9.5 (PGP9.5) and calcitonin gene-related peptide (CGRP). *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(2):240-7.

- Ganea D, Delgado M. Vasoactive intestinal peptide (VIP) and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) as modulators of both innate and adaptive immunity. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(3):229-37.
- Gaspersic R, Kovacic U, Glisovic S, Cör A, Skaleric U. Anti-NGF treatment reduces bone resorption in periodontitis. *J Dent Res.* 2010; 89(5):515-20.
- Gehlert DR. Role of hypothalamic neuropeptide Y in feeding and obesity. *Neuropeptides.* 1999 Oct;33(5):329-38.
- Giannobile WV, Al-Shammari KF, Sarment DP. Matrix molecules and growth factors as indicators of periodontal disease activity. *Periodontol* 2000. 2003;31:125-34.
- Giannopoulou C, Kamma JJ, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol.* 2003; 30(2):145-53.
- Goodis HE, Bowles WR, Hargreaves KM. Prostaglandin E2 enhances bradykinin-evoked iCGRP release in bovine dental pulp. *J Dent Res.* 2000;79(8):1604-7
- Gunthorpe MJ, Benham CD, Randall A, Davis JB. The diversity in the vanilloid (TRPV) receptor family of ion channels. *Trends Pharmacol Sci.* 2002;23(4):183-91
- Güncü GN, Tözüm TF, Güncü MB, Yamalik N, Tümer C, Karabulut E, Kiliç K. Myeloperoxidase as a measure of polymorphonuclear leukocyte response in inflammatory status around immediately and delayed loaded dental implants: a randomized controlled clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2008;10(1):30-9.
- Györfi A, Fazekas A, Rosivall L. Neurogenic inflammation and the oral mucosa. *J Clin Periodontol.* 1992; 19(10):731-6.
- Hanioka T, Takaya K, Matsumori Y, Matsuse R, Shizukuishi S. Relationship of the substance P to indicators of host response in human gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol.* 2000; 27(4):262-6.

- Hansen CJ, Burnell KK, Brogden KA. Antimicrobial activity of Substance P and Neuropeptide Y against laboratory strains of bacteria and oral microorganisms. *J Neuroimmunol.* 2006; 177(1-2):215-8.
- Haraldson T. Comparisons of chewing patterns in patients with bridges supported on osseointegrated implants and subjects with natural dentitions. *Acta Odontol Scand.* 1983;41(4):203-8.
- Hartung HP, Wolters K, Toyka KV. Substance P: binding properties and studies on cellular responses in guinea pig macrophages. *J Immunol.* 1986;136(10):3856-63.
- Haug SR, Heyeraas KJ. Modulation of dental inflammation by the sympathetic nervous system. *J Dent Res.* 2006 Jun;85(6):488-95.
- Heitz-Mayfield LJ. Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *J Clin Periodontol.* 2008 Sep;35(8 Suppl):292-304
- Helke CJ, Sasek CA, Niederer AJ, Krause JE. Tachykinins in autonomic control systems. The company they keep. *Ann N Y Acad Sci.* 1991; 632:154-69.
- Hernández M, Dutzan N, García-Sesnich J, Abusleme L, Dezerega A, Silva N, González FE, Vernal R, Sorsa T, Gamonal J. Host-pathogen interactions in progressive chronic periodontitis. *J Dent Res.* 2011;90(10):1164-70.
- Heyeraas KJ, Kvinnsland I, Byers MR, Jacobsen EB. Nerve fibers immunoreactive to protein gene product 9.5, calcitonin gene-related peptide, substance P, and neuropeptide Y in the dental pulp, periodontal ligament, and gingiva in cats. *Acta Odontol Scand.* 1993; 51(4):207-21.
- Hofer D, Hämmerle CH, Grassi M, Mombelli A. The effect of a single mechanical treatment on the subgingival microflora in patients with HIV-associated gingivitis. *J Clin Periodontol.* 1996; 23(3 Pt 1):180-7.
- Holmgren S, Jensen J. Evolution of vertebrate neuropeptides. *Brain Res Bull.* 2001 Aug;55(6):723-35

- Holzer P. Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: involvement of tachykinins, calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience*. 1988; 24(3):739-68.
- Hoyle CH. Neuropeptide families and their receptors: evolutionary perspectives. *Brain Res*. 1999; 27;848(1-2):1-25
- Hökfelt T, Broberger C, Xu ZQ, Sergeev V, Ubink R, Diez M. Neuropeptides an overview. *Neuropharmacology*. 2000; 39(8):1337-56.
- Hu Y, Dunbar JC. Intracerebroventricular administration of NPY increases sympathetic tone selectively in vascular beds. *Brain Res Bull*. 1997;44(1):97-103.
- Hukkanen M, Konttinen YT, Santavirta S, Paavolainen P, Gu XH, Terenghi G, Polak JM. Rapid proliferation of calcitonin gene-related peptide-immunoreactive nerves during healing of rat tibial fracture suggests neural involvement in bone growth and remodelling. *Neuroscience*. 1993; 54(4):969-79.
- Imai S, Matsusue Y. Neuronal regulation of bone metabolism and anabolism: calcitonin gene-related peptide, substance P, and tyrosine hydroxylase-containing nerves and the bone. *Microsc Res Tech*. 2002; 58(2):61-9.
- Imai S, Rauvala H, Konttinen YT, Tokunaga T, Maeda T, Hukuda S, Santavirta S. Efferent targets of osseous CGRP-immunoreactive nerve fiber before and after bone destruction in adjuvant arthritic rat: an ultramorphological study on their terminal-target relations. *J Bone Miner Res*. 1997; 12(7):1018-27.
- Irie K, Hara-Irie F, Ozawa H, Yajima T. Calcitonin gene-related peptide (CGRP)-containing nerve fibers in bone tissue and their involvement in bone remodeling. *Microsc Res Tech*. 2002; 58(2):85-90.
- Ishikawa I. Host responses in periodontal diseases: a preview. *Periodontol* 2000 2007;43:9-13.

- Jacobs R, Schotte A, van Steenberghe D. Influence of temperature and foil hardness on interocclusal tactile threshold. *J Periodontal Res.* 1992; 27(6):581-7.
- Jancsó N, Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J. Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *Br J Pharmacol Chemother.* 1967; 31(1):138-51.
- Jancsó N, Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J. Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *Br J Pharmacol Chemother.* 1967; 31(1):138-51.
- Janelins BM, Mathers AR, Tkacheva OA, Erdos G, Shufesky WJ, Morelli AE, Larregina AT. Proinflammatory tachykinins that signal through the neurokinin 1 receptor promote survival of dendritic cells and potent cellular immunity. *Blood.* 2009; 113(13):3017-26.
- Jirikowski GF, Sanna PP, Bloom FE. mRNA coding for oxytocin is present in axons of the hypothalamo-neurohypophysial tract. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990; 87(19):7400-4.
- Kabashima H, Nagata K, Maeda K, Iijima T. Involvement of substance P, mast cells, TNF-alpha and ICAM-1 in the infiltration of inflammatory cells in human periapical granulomas. *J Oral Pathol Med.* 2002;31(3):175-80.
- Kamel HA, Toland J. Trigeminal nerve anatomy: illustrated using examples of abnormalities. *AJR Am J Roentgenol.* 2001; 176(1):247-51.
- Kantarci A, Oyaizu K, Van Dyke TE. Neutrophil-mediated tissue injury in periodontal disease pathogenesis: findings from localized aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2003;74:66-75.
- Kato J, Wakisaka S, Kurisu K. Immunohistochemical changes in the distribution of nerve fibers in the periodontal ligament during an experimental tooth movement of the rat molar. *Acta Anat (Basel).* 1996;157(1):53-62.
- Kemppainen P, Avellan NL, Handwerker HO, Forster C. Differences between tooth stimulation and capsaicin-induced neurogenic vasodilatation in human gingiva. *J Dent Res.* 2003; 82(4):303-7.

- Kennett CN, Cox SW, Eley BM. Investigations into the cellular contribution to host tissue proteases and inhibitors in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol.* 1997;24(6):424-31.
- Kimball JR, Nittayananta W, Klausner M, Chung WO, Dale BA. Antimicrobial barrier of an in vitro oral epithelial model. *Arch Oral Biol.* 2006;51(9):775-83.
- Kinane DF, Podmore M, Murray MC, Hodge PJ, Ebersole J. Etiopathogenesis of periodontitis in children and adolescents. *Periodontol 2000* 2001;26:54-91.
- Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*: 2001;25:8-20
- Kivelä-Rajamäki MJ, Teronen OP, Maisi P, Husa V, Tervahartiala TI, Pirilä EM, Salo TA, Mellanen L, Sorsa TA. Laminin-5 gamma2-chain and collagenase-2 (MMP-8) in human peri-implant sulcular fluid. *Clin Oral Implants Res.* 2003; 14(2):158-65.
- Kontinen Y, Imai S, Suda A. Neuropeptides and the puzzle of bone remodeling. State of the art. *Acta Orthop Scand.* 1996; 67(6):632-9.
- Kvinnslund I, Heyeraas KJ. Effect of traumatic occlusion on CGRP and SP immunoreactive nerve fibre morphology in rat molar pulp and periodontium. *Histochemistry.* 1992;97(2):111-20.
- Kvinnslund IH, Tadokoro O, Heyeraas KJ, Kozawa Y, Vandevska-Radunovic V. *Acta Odontol Scand.* Neuroendocrine cells in Malassez epithelium and gingiva of the cat. 2000; 58(3):107-12.
- Lambrichts I, Creemers J, van Steenberghe D. Morphology of neural endings in the human periodontal ligament: an electron microscopic study. *J Periodontal Res.* 1992;27(3):191-6
- Lamster IB. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Ann Periodontol.* 1997;2(1):123-37.
- Lamster IB. The host response in gingival crevicular fluid: potential applications in periodontitis clinical trials. *J Periodontol* 1992;63:1117-1123.

- Lang NP, Berglundh T; Working Group 4 of Seventh European Workshop on Periodontology. Periimplant diseases: where are we now?--Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2011;38 Suppl 11:178-81.
- Larsson J, Ekblom A, Henriksson K, Lundeberg T, Theodorsson E. Concentration of substance P, neurokinin A, calcitonin gene-related peptide, neuropeptide Y and vasoactive intestinal polypeptide in synovial fluid from knee joints in patients suffering from rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 1991;20(5):326-35.
- Lembeck F, Holzer P. Substance P as neurogenic mediator of antidromic vasodilation and neurogenic plasma extravasation. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1979;310(2):175-83.
- Levite M. Neuropeptides, by direct interaction with T cells, induce cytokine secretion and break the commitment to a distinct T helper phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(21):12544-9.
- Lewis T, Zotterman Y. Vascular reactions of the skin to injury: Part VIII. The resistance of the human skin to constant currents, in relation to injury and vascular response. *J Physiol.* 1927 12;62(3):280-8.
- Lieb K, Fiebich BL, Busse-Grawitz M, Hüll M, Berger M, Bauer J. Effects of substance P and selected other neuropeptides on the synthesis of interleukin-1 beta and interleukin-6 in human monocytes: a re-examination. *J Neuroimmunol.* 1996; 67(2):77-81.
- Liljenberg B, Gualini F, Berglundh T, Tonetti M, Lindhe J. Composition of plaque-associated lesions in the gingiva and the peri-implant mucosa in partially edentulous subjects. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(2):119-23.
- Linden GJ, McKinnell J, Shaw C, Lundy FT Substance P and neurokinin A in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(11):799-803.

- Linden GJ, Mullally BH, Burden DJ, Lamey PJ, Shaw C, Ardill J, Lundy FT. Changes in vasoactive intestinal peptide in gingival crevicular fluid in response to periodontal treatment. *J Clin Periodontol.* 2002; 29(6):484-9.
- Linden GJ, Mullally BH, Burden DJ, Lamey PJ, Shaw C, Ardill J, Lundy FT. Changes in vasoactive intestinal peptide in gingival crevicular fluid in response to periodontal treatment. *J Clin Periodontol.* 2002 ;29(6):484-9.
- Lindhe J, Lang NP, Karring T. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry.* Fifth edition. Oxford, Blackwell Publishing Ltd (2008): 48-49
- Lindhe J, Meyle J; Group D of European Workshop on Periodontology. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2008 ;35(8 Suppl):282-5.
- Loesche WJ, Grossman NS. Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Rev* 2001;14: 727-752,
- Löe H., Theilade E., Jensen SB. Experimental Gingivitis in Man. *J Periodontol.* 1965; 36:177-87.
- Lundberg JM, Torssell L, Sollevi A, Pernow J, Theodorsson Norheim E, Anggård A, Hamberger B. Neuropeptide Y and sympathetic vascular control in man. *Regul Pept.* 1985;13(1):41-52.
- Lundy FT, El Karim IA, Linden GJ. Neuropeptide Y (NPY) and NPY Y1 receptor in periodontal health and disease. *Arch Oral Biol.* 2009 ;54(3):258-62.
- Lundy FT, Linden GJ. Neuropeptides and neurogenic mechanisms in oral and periodontal inflammation. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004;15(2):82-98.
- Lundy FT, Mullally BH, Burden DJ, Lamey PJ, Shaw C, Linden GJ. Changes in substance P and neurokinin A in gingival crevicular fluid in

- response to periodontal treatment. *J Clin Periodontol.* 2000; 27(7):526-30.
- Lundy FT, Salmon AL, Lamey PJ, Shaw C, Linden GJ. Carboxypeptidase-mediated metabolism of calcitonin gene-related peptide in human gingival crevicular fluid--a rôle in periodontal inflammation? *J Clin Periodontol.* 2000; 27(7):499-505.
- Lundy FT, Shaw C, McKinnell J, Lamey PJ, Linden GJ. Calcitonin gene-related peptide in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *J Clin Periodontol.* 1999; 26(4):212-6.
- Luthman J, Friskopp J, Dahllöf G, Ahlström U, Sjöström L, Johansson O. Immunohistochemical study of neurochemical markers in gingiva obtained from periodontitis-affected sites. *J Periodontal Res.* 1989; 24(4):267-78.
- Luthman J, Johansson O, Ahlström U, Kvint S. Immunohistochemical studies of the neurochemical markers, CGRP, enkephalin, galanin, gamma-MSH, NPY, PHI, proctolin, PTH, somatostatin, SP, VIP, tyrosine hydroxylase and neurofilament in nerves and cells of the human attached gingiva. *Arch Oral Biol.* 1988;33(3):149-58.
- Maggi CA Tachykinins and calcitonin gene-related peptide (CGRP) as cotransmitters released from peripheral endings of sensory nerves. *Prog Neurobiol* 1995; 45: 1–98.
- Mariotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. *Ann Periodontol.* 1999; 4(1):7-19.
- Martinez LR, Mihu MR, Gácser A, Santambrogio L, Nosanchuk JD. Methamphetamine enhances histoplasmosis by immunosuppression of the host. *J Infect Dis.* 2009;200(1):131-41.
- McGillis JP, Humphreys S, Reid S. Characterization of functional calcitonin gene-related peptide receptors on rat lymphocytes. *J Immunol.* 1991;147(10):3482-9.

- McGillis JP, Mitsuhashi M, Payan DG. Immunomodulation by tachykinin neuropeptides. *Ann N Y Acad Sci.* 1990;594:85-94.
- Mechiche H, Grassin-Delye S, Pinto FM, Buenestado A, Candenas L, Devillier P. Smooth muscle neurokinin-2 receptors mediate contraction in human saphenous veins. *Pharmacol Res.* 2011;63(5):414-22.
- Metwali A, Blum AM, Ferraris L, Klein JS, Fiocchi C, Weinstock JV. Eosinophils within the healthy or inflamed human intestine produce substance P and vasoactive intestinal peptide. *J Neuroimmunol.* 1994; 52(1):69-78.
- Mombelli A, Marxer M, Gaberthüel T, Grunder U, Lang NP. The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1995; 22(2):124-30.
- Mombelli A, van Oosten MA, Schurch E Jr, Land NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol.* 1987;2(4):145-51.
- Monteiro da Silva AM, Oakley DA, Newman HN, Nohl FS, Lloyd HM. Psychosocial factors and adult onset rapidly progressive periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1996; 23(8):789-94.
- Moore WE, Moore LV. The bacteria of periodontal diseases.
- Murata M, Tatsumi J, Kato Y, Suda S, Nunokawa Y, Kobayashi Y, Takeda H, Araki H, Shin K, Okuda K, Miyata T, Yoshie H. Osteocalcin, deoxypyridinoline and interleukin-1beta in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res.* 2002; 13(6):637-43.
- Nagata E, Kondo T, Ayasaka N, Nakata M, Tanaka T. Immunohistochemical study of nerve fibres with substance P- or calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity in the junctional epithelium of developing rats. *Arch Oral Biol.* 1992; 37(8):655-62.

- Nawa H, Kotani H, Nakanishi S. Tissue-specific generation of two preprotachykinin mRNAs from one gene by alternative RNA splicing. *Nature*. 1984;312(5996):729-34.
- Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology Middle East and Africa Edition*. 10th Ed., Philadelphia, W.B. Saunders Company. 2007;99-208.
- Nicolodi M, Del Bianco E. Sensory neuropeptides (substance P, calcitonin gene-related peptide) and vasoactive intestinal polypeptide in human saliva: their pattern in migraine and cluster headache. *Cephalalgia*. 1990;10(1):39-50.
- Offenbacher S, Collins JG, Arnold RR. New clinical diagnostic strategies based on pathogenesis of disease. *J Periodontal Res*. 1993;28(6 Pt 2):523-35
- Oh TJ, Yoon J, Misch CE, Wang HL. The causes of early implant bone loss: myth or science? *J Periodontol*. 2002; 73(3):322-33.
- Olgart L. Neural control of pulpal blood flow. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1996;7(2):159-71.
- Oprée A, Kress M. Involvement of the proinflammatory cytokines tumor necrosis factor-alpha, IL-1 beta, and IL-6 but not IL-8 in the development of heat hyperalgesia: effects on heat-evoked calcitonin gene-related peptide release from rat skin. *J Neurosci*. 2000;20(16):6289-93.
- Özmeriç N. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta*. 2004; 343(1-2):1- 6.
- Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* 1976;34:235-249
- Paolantonio M, Di Placido G, Tumini V, Di Stilio M, Contento A, Spoto G. Aspartate aminotransferase activity in crevicular fluid from dental implants. *J Periodontol*. 2000; 71(7):1151-7.
- Payne WA, Page RC, Ogilvie AL, Hall WB. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. *J Periodontal Res* 1975;10:51-64.

- Periodontol 2000: 1994;5: 66-77.
- Pradeep AR, Raj S, Aruna G, Chowdhry S. Gingival crevicular fluid and plasma levels of neuropeptide Substance-P in periodontal health, disease and after nonsurgical therapy. J Periodontal Res. 2009;44(2):232-7.
- Rameshwar P. Substance P: a regulatory neuropeptide for hematopoiesis and immune functions. Clin Immunol Immunopathol. 1997; 85(2):129-33.
- Reuland-Bosma W, van Dijk J. Periodontal disease in Down's syndrome: a review. J Clin Periodontol. 1986; 13(1):64-73.
- Richardson JD, Vasko MR (2002). Cellular mechanisms of neurogenic inflammation. J Pharmacol Exp Ther. 302 (3):839-45
- Sahingur SE, Cohen RE. Analysis of host responses and risk for disease progression. Periodontol 2000: 2004;34: 57-83.
- Said SI, Mutt V (1970). Potent peripheral and splanchnic vasodilation peptide from normal gut. Nature. 225:863-864.
- Sakallioğlu EE, Lütfiöğlu M, Sakallioğlu U, Diraman E, Pamuk F, Odyakmaz S. Local peptidergic innervation of gingiva in smoking and non-smoking periodontitis patients. J Periodontol. 2008; 79(8):1451-6.
- Schenkein HA. Host responses in maintaining periodontal health and determining periodontal disease. Periodontol 2000 2006;40:77-93.
- Schwarz F, Hertzen M, Sager M, Bieling K, Sculean A, Becker J. Comparison of naturally occurring and ligature-induced peri-implantitis bone defects in humans and dogs. Clin Oral Implants Res. 2007;18(2):161-70.
- Sennerby L, Carlsson GE, Bergman B, Warfvinge J. Mandibular bone resorption in patients treated with tissue-integrated prostheses and in complete-denture wearers. Acta Odontol Scand. 1988; 46(3):135-40.
- Sessle BJ. Acute and chronic craniofacial pain: brainstem mechanisms of nociceptive transmission and neuroplasticity, and their clinical correlates. Crit Rev Oral Biol Med. 2000;11(1):57-91.
- Seymour GJ, Powell RN, Cole KL, Aitken JF, Brooks D, Beckman I et al. Experimental gingivitis in humans. A histochemical and

- immunological characterization of the lymphoid cell subpopulations. *J Periodontal Res.* 1983;18:375-385.
- Seymour GJ, Powell RN, Davies WI. The immunopathogenesis of progressive chronic inflammatory periodontal disease. *J Oral Pathol.* 1979;8(5):249-65.
- Shapira L, Wilensky A, Kinane DF. Effect of genetic variability on the inflammatory response to periodontal infection. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6: 72-86.
- Silva MT. Neutrophils and macrophages work in concert as inducers and effectors of adaptive immunity against extracellular and intracellular microbial pathogens. *J Leukoc Biol.* 2010;87(5):805-13.
- Silverstein LH, Kurtzman D, Garnick JJ, Schuster GS, Steflik DE, Moskowitz ME. The microbiota of the peri-implant region in health and disease. *Implant Dent.* 1994;3(3):170-4.
- Small CJ, Bloom SR. Gut hormones and the control of appetite. *Trends Endocrinol Metab.* 2004;15(6):259-63.
- Smalley JW. Pathogenic mechanisms in periodontal disease. *Adv Dent Res* 1994;8:320-328.
- Sorsa T, Tjaderhane L, Konttinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee HM et al. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med* 2006;38:306-321
- Steinhoff M, Vergnolle N, Young SH, Tognetto M, Amadesi S, Ennes HS, Trevisani M, Hollenberg MD, Wallace JL, Caughey GH, Mitchell SE, Williams LM, Geppetti P, Mayer EA, Bunnett NW. Agonists of proteinase-activated receptor 2 induce inflammation by a neurogenic mechanism. *Nat Med.* 2000;6(2):151-8.
- Tatakis DN, Trombelli L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. I. Background review and rationale. *J Clin Periodontol.* 2004; 31(4):229-38.
- Tatakis DN, Kumar PS. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. *Dent Clin North Am.* 2005;49(3):491-516

- Tonetti MS, Imboden M, Gerber L, Lang NP. Compartmentalization of inflammatory cell phenotypes in normal gingiva and peri-implant keratinized mucosa. *J Clin Periodontol.* 1995; 22(10):735-42.
- Tonetti MS, Schmid J. Pathogenesis of implant failures. *Periodontol* 2000. 1994;4:127-38.
- Toriya Y, Hashiguchi I, Maeda K. Immunohistochemical examination of the distribution of macrophages and CGRP-immunoreactive nerve fibers in induced rat periapical lesions. *Endod Dent Traumatol.* 1997; 13(1):6-12.
- Tözüm TF, Akman AC, Yamalik N, Tulunoglu I, Turkyilmaz I, Karabulut E, Kilinc K, Cehreli MC. Analysis of the inflammatory process around endosseous dental implants and natural teeth: myeloperoxidase level and nitric oxide metabolism. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2007 ;22(6):969-79.
- Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature.* 2002;19-26;420(6917):853-9.
- Trejo SP, Bonaventura G, Weng D, Caffesse RG, Bragger U, Lang NP. Effect of mechanical and antiseptic therapy on peri-implant mucositis: an experimental study in monkeys. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17(3):294-304.
- Trulsson M. Sensory-motor function of human periodontal mechanoreceptors. *J Oral Rehabil.* 2006; 33(4):262-73.
- Turner AJ. Processing and metabolism of neuropeptides. *Essays Biochem.* 1986;22:69-119.
- Uehara A, Sugawara S, Muramoto K, Takada H. Activation of human oral epithelial cells by neutrophil proteinase 3 through protease-activated receptor-2. *J Immunol.* 2002 Oct 15;169(8):4594-603.
- Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol* 2000. 2003;31:77-104.
- V Euler US, Gaddum JH. An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. *J Physiol.* 1931 6;72(1):74-87.

- Valentijn K, Gutow AP, Troiano N, Gundberg C, Gilligan JP, Vignery A. Effects of calcitonin gene-related peptide on bone turnover in ovariectomized rats. *Bone*. 1997; 21(3):269-74.
- Van der Weijden GA, Timmerman MF, Danser MM, Nijboer A, Saxton CA, Van der Velden U. Effect of pre-experimental maintenance care duration on the development of gingivitis in a partial mouth experimental gingivitis model. *J Periodontal Res* 1994;29:168-173.
- Vasko MR, Campbell WB, Waite KJ. Prostaglandin E2 enhances bradykinin-stimulated release of neuropeptides from rat sensory neurons in culture. *J Neurosci*. 1994;14(8):4987-97.
- Vergnolle N. Proteinase-activated receptor-2-activating peptides induce leukocyte rolling, adhesion, and extravasation in vivo. *J Immunol*. 1999;163(9):5064-9.
- Vettore MV, Leão AT, Monteiro Da Silva AM, Quintanilha RS, Lamarca GA. *J Clin Periodontol*. The relationship of stress and anxiety with chronic periodontitis. 2003 ;30(5):394-402.
- Wadachi R, Hargreaves KM. Trigeminal nociceptors express TLR-4 and CD14: a mechanism for pain due to infection. *J Dent Res*. 2006; 85(1):49-53.
- Wakisaka S, Takikita S, Sasaki Y, Kato J, Tabata MJ, Kurisu K. Cell size-specific appearance of neuropeptide Y in the trigeminal ganglion following peripheral axotomy of different branches of the mandibular nerve of the rat. *Brain Res*. 1993; 620(2):347-50.
- Wakisaka S, Youn SH, Kato J, Takemura M, Kurisu K. Neuropeptide Y-immunoreactive primary afferents in the dental pulp and periodontal ligament following nerve injury to the inferior alveolar nerve in the rat. *Brain Res*. 1996; 712(1):11-8.
- Wang F, Millet I, Bottomly K, Vignery A. Calcitonin gene-related peptide inhibits interleukin 2 production by murine T lymphocytes. *J Biol Chem*. 1992; 267(29):210 52-57

- Wang X, Xing L, Xing Y, Tang Y, Han C. Identification and characterization of immunoreactive calcitonin gene-related peptide from lymphocytes of the rat. *J Neuroimmunol.* 1999; 94(1-2):95-102.
- Yalçın S, Baseğmez C, Mijiritsky E, Yalçın F, Isik G, Onan U. Detection of implant crevicular fluid prostaglandin E2 levels for the assessment of peri-implant health: a pilot study. *Implant Dent.* 2005;14(2):194-200.
- Yamaguchi M, Yoshii M, Kasai K. Relationship between substance P and interleukin-1beta in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement in adults. *Eur J Orthod.* 2006;28(3):241-6.
- Yamaza T, Kido MA, Wang B, Danjo A, Shimohira D, Murata N, Yoshinari M, Tanaka T. Distribution of substance P and neurokinin-1 receptors in the peri-implant epithelium around titanium dental implants in rats. *Cell Tissue Res.* 2009; 335(2):407-15.
- Yannielli PC, Harrington ME. Peptides. Neuropeptide Y in the mammalian circadian system: effects on light-induced circadian responses. 2001; 22(3):547-56.
- Yiangou Y, Facer P, Dyer NH, Chan CL, Knowles C, Williams NS, Anand P. Vanilloid receptor 1 immunoreactivity in inflamed human bowel. *Lancet.* 2001;357(9265):1338-9.
- Young MR, Fleetwood-Walker SM, Dickinson T, Blackburn-Munro G, Sparrow H, Birch PJ, Bountra C. Behavioural and electrophysiological evidence supporting a role for group I metabotropic glutamate receptors in the mediation of nociceptive inputs to the rat spinal cord. *Brain Res.* 1997;777(1-2):161-9.
- Zachrisson BU. A histological study of experimental gingivitis in man. *J Periodontal Res.* 1968;3:293-302.
- Zaidi M, Fuller K, Bevis PJ, GainesDas RE, Chambers TJ, MacIntyre I. Calcitonin gene-related peptide inhibits osteoclastic bone resorption: a comparative study. *Calcif Tissue Int.* 1987; 40(3):149-54.
- Zitzmann NU, Berglundh T. Definition and prevalence of peri-implant diseases. *J Clin Periodontol.* 2008;35(8 Suppl):286-91

Zukowska-Grojec Z, Karwatowska-Prokopczuk E, Rose W, Rone J, Movafagh S, Ji H, Yeh Y, Chen WT, Kleinman HK, Grouzmann E, Grant DS. Neuropeptide Y: a novel angiogenic factor from the sympathetic nerves and endothelium. *Circ Res.* 1998 ;83(2):187-95.

EK 1: Etik Kurul Kararı

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMA ETİK KOMİSYONU


Sayı: 752

28.10.2011

Sayın: Doç. Dr. Umur SAKALLIOĞLU

Etik Komisyonumuza sunmuş olduğunuz **Periimplant ve periodontal hastalıklarda nörojenik enflamasyonun incelenmesi** başlıklı Tıbbi Araştırma Etik Komisyonu 2011/394 Karar nolu Veri kaynakları taraması Nitelikli araştırma projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları, OMÜ-TAEK yönergesine göre incelenmiş etik açıdan bir sakınca olmadığına, çalışmanın süresi 6 ayı geçerse 6 aylık bildirimlerinin yapılmasına; çalışma tamamlandıktan sonra sonucunun tarafımıza en geç üç(3) ay içerisinde bildirilmesine 29.09.2011 tarihli etik komisyonumuzda oy birliği ile karar verilmiştir

Bilgilerinize arz/rica ederim.


Ecz. Güler KÖSEDAG

Tıbbi Araştırma Etik Komisyonu
Başkan yardımcısı

EK 2 : Hasta Gönüllü Onam Formu Örneği

HASTA BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ

ARAŞTIRMANIN ADI (ÇALIŞMANIN AÇIK ADI):

Periimplant ve periodontal hastalıklarda nörojenik enflamasyonun incelenmesi

Gönüllünün Baş Harfleri < >

Bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağını çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız ve eğer istiyorsanız özel veya aile doktorunuzla konuyu değerlendiriniz. Eğer bir başka çalışmada da yer alıyorsanız bu çalışmada yer alamazsınız.

BU ÇALIŞMAYA KATILMAK ZORUNDAMIYIM?

Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirsiniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. Katılmaya karar verirsiniz, çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Bu durum sizin aldığımız tedavinin standardını etkilemeyecektir. Eğer isterseniz, bu klinik çalışmaya katılımınızla ilgili olarak hekiminiz / aile doktorunuz bilgilendirilecektir. Ayrıca destekleyici firma çalışmayı sonlandırmaya karar verirse bu durumda da çalışmadan çıkartılacaksınız.

ÇALIŞMANIN KONUSU VE AMACI NEDİR?

Günümüzde, tam veya kısmi diş eksikliklerinin tedavisinde dental implantlar sıklıkla tercih edilmektedir. Çalışmamızda, diş ve implant çevresi dokuların sağlığını incelemeye ve karşılaştırmaya yönelik olarak kemikiçi implantlarda ve doğal dişlerde sinir dokusu kaynaklı ve iltihabın önemli belirleyicileri olduğu kabul edilen moleküllerin değerlendirilmesi planlanmaktadır. Bu amaçla, diş ve implant çevresi dokularda hastalık varlığı ve yokluğunda bu moleküllerin seviyelerindeki değişimler; implant ve diş saran dokulardan üretilen oluk sıvısında tespit edilerek değerlendirilecektir.

ÇALIŞMA İŞLEMLERİ:

Araştırma koşullarına uygun olan diş ve implant çevresi dişeti olduğundan sıvı toplanacaktır. Bu işlem 30 saniye sürmektedir. Herhangi bir şekilde hastanın acı duyması veya zarar görmesi ihtimali yoktur.

BENİM NE YAPMAM GEREKİYOR?

Çalışma doktorunuzun talimatlarına uymaya, randevu ve vizitelere katılmaya ve yukarıda anlatılan çalışmayla ilgili tüm işlemlere uymaya istekli olmalısınız. Kan örnekleri için açlık durumunda (aç karnına) olmanız gerekmektedir (su dışında başka hiçbir yiyecek ve içeceğin tüketilmemesi gerekmektedir). Çalışma doktorunuzu ziyarete belirlenen günlerde gelmelisiniz ve bir sonraki ziyaretiniz de, ziyaretten ayrılmadan önce planlanmalıdır. Yine çalışmadan önce veya çalışma sırasında aldığınız başka herhangi bir tıbbi tedaviyi de çalışma doktoruna söylemeniz önemlidir.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN NE GİBİ OLASI YAN ETKİLERİ, RİSKLERİ VE RAHATSIZLIKLARI VARDIR?

Araştırmamız; hastalarımızda herhangi bir yan etki, risk veya konforsuz hissedecekleri bir durum yaratmamaktadır.

GEBELİK VE DOĞUM KONTROLÜ

Eğer denek / hasta doğurganlık döneminde / emziren bir kadın ise....

ÇALIŞMAYA KATILMANIN OLASI YARARLARI NELERDİR? (Varsa açıklayınız)

Araştırmamız herhangi bir tedavi içermemektedir. Olası bir yararı ve zararı yoktur.

GÖNÜLLÜ KATILIM

Bu araştırmaya katılma kararımı tamamen gönüllü olarak veriyorum. Bu çalışmaya katılmayı reddedebileceğim veya katıldıktan sonra istediğim zaman, bu tedavi kurumunda göreceğim bakım ve tedaviler etkilenmeksizin ve hiçbir sorumluluk almadan ayrılabilirim bilincindeyim. Çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılırsam, ayrılma nedenlerimi, ayrılışımın sonuçlarını ve izleyen dönemde alacağım tedavileri doktorumla tartışacağım.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN MALİYETİ NEDİR?

Çalışma doktoru ziyaretleri ve çalışmayla ilgili olan tüm laboratuvar testleri çalışma destekleyici tarafından karşılanacak ve size veya bağlı bulunduğunuz özel sigorta veya resmi sosyal güvenlik kurumuna ödetilmeyecektir. Ayrıca çalışmaya bağlı makul miktardaki yol gideriniz makbuzları gösterildiği takdirde karşılanacaktır.

Herhangi bir yan etki veya fiziksel zarar gelişirse hemen çalışma doktorunuzu gereken tıbbi tedavinin uygulanabilmesi için bilgilendiriniz.

KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?

Bu formu imzalayarak doktorunuzun ve onun kadrosunun çalışma için sizin kişisel bilgilerinizi (“Çalışma Verileri”) toplamalarına ve kullanmalarına onay vermiş olacaksınız. Bu durum doğum tarihiniz, cinsiyetiniz, etnik kökeniniz ayrıca Çalışma verilerinizin kullanımı ile ilgili verdiğiniz onayın herhangi bir belirlenmiş birim tarihi yoktur, ancak doktorunuzu haberdar ederek bu onayınızdan herhangi bir zamanda vazgeçebilirsiniz.

Çalışma destekleyicisi firma ile paylaşılan çalışma verileri size özel bir numara olan bir kod (“Kod”) numarası kullanımıyla korunacaktır. Sizin çalışma verilerinize ulaşmak için gerekli olan kod anahtarı çalışma doktorunuzun denetimindedir. Çalışma destekleyicisi firma düzenleyici otorite veya diğer denetim kurumları tarafından atanmış kişiler doktorunuz tarafından tutulan çalışma verilerinizi inceleyebilirler.

Doktorunuz çalışma verilerinizi çalışma için kullanacaktır. Çalışma destekleyicisi firma; çalışmanın yürütülmesi, teşhis ve tıbbi yardım gereçlerinin geliştirilmesi için çalışma verilerinizi kullanabilir. Doktorunuzun çalıştığı kurum ve çalışma destekleyicisi firmanın her ikisi de yürürlükte olan veri koruma kanunları ile uyumlu olarak çalışma verilerinizin yönetiminden sorumludurlar.

Çalışma destekleyicisi firma çalışma verilerinizi, sadece yukarıda belirtilen amaçlarda kullanacak olan kendi grubundaki diğer şirketler, hizmet alınan kurumlar, anlaşmalı firmalar ve diğer araştırma kuruluşları ile paylaşabilir. Çalışmanın sonuçları tıbbi yayınlarda yayınlanabilir, ancak sizin kimlik bilgileriniz bu yayınlarda açıklanmayacaktır.

Doktorunuz ya da çalışma destekleyicisi firmadan, toplanan çalışma verileriniz hakkında bilgi isteme hakkında sahipsizsiniz. Aynı zamanda bu verilerdeki herhangi bir hatanın düzeltilmesini isteme hakkında da sahipsizsiniz. Eğer bu konuda bir isteğiniz olursa lütfen gerekirse sizin çalışma destekleyicisi firma ile temasa geçmenize yardımcı olabilecek doktorunuzla görüşünüz.

Eğer onayınızda vazgeçerseniz, doktorunuz çalışma verilerinizi artık kullanamayacak ya da diğer kişilerle paylaşamayacaktır. Çalışma destekleyicisi firma onayınızdan vazgeçmeden önceki çalışma verilerinizi kullanmaya devam edebilir.

Bu formu imzalayarak, çalışma verilerinizin bu formda tanımlandığı şekilde kullanımına onay vermekteyim.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE 24 SAAT ULAŞILABİLECEK KİŞİLER:

Dt. Sertaç SERT – 0505 430 3682 – 0362 3121919(3366-3785)

ÇALIŞMADAN AYRILMAMI GEREKTİRECEK DURUMLAR: Varsa açıklayınız

YENİ BİLGİLER ÇALIŞMADAKİ ROLÜMÜ NASIL ETKİLEYEBİLİR

Çalışma sürerken ortaya çıkmış olan bütün yeni bilgiler bana derhal iletilecektir.

Çalışmaya Katılma Onayı

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum. Doktorum saklamam için bu belgenin bir kopyasını çalışma sırasında dikkat edeceğim noktaları da içerecek şekilde bana teslim etmiştir.

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Açıklamaları Yapan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Sertaç SERT

Doğum Yeri: TRABZON

Doğum Tarihi: 08.03.1983

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Trabzon Cudibey İlköğretim Okulu (1989 – 1994)

Trabzon Kanuni Anadolu Lisesi (1994 – 2001)

Ankara Üni. Diş Hekimliği Fakültesi (2001 – 2006)

O.M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD. (2008 - ...)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Trabzon Ağız Diş Sağlığı Merkezi (2007 – 2008)

E-posta: dtsertacsert@hotmail.com