

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

**LİGATÜRLE OLUŞTURULAN PERİODONTİTİS VE
DENEYSEL LATHYRİSM MODELİNDE RADYOLOJİK,
BİYOKİMYASAL, HİSTOPATOLOJİK, ULTRASTRÜKTÜREL
DEĞERLENDİRME**

DOKTORA TEZİ

Gonca ÇAYIR KELEŞ

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**SAMSUN
Eylül 2001**

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

**LİGATÜRLE OLUŞTURULAN PERİODONTİTİS VE
DENEYSEL LATHYRİSM MODELİNDE RADYOLOJİK,
BİYOKİMYASAL, HİSTOPATOLOJİK, ULTRASTRÜKTÜREL
DEĞERLENDİRME**

DOKTORA TEZİ

Gonca ÇAYIR KELEŞ


Danışman: Doç. Dr. Gökhan AÇIKGÖZ

**SAMSUN
Eylül 2001**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ


Bu çalışma jürimiz tarafından Periodontoloji Programında doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. GÖKHAN AÇIKGÖZ 


Üye: Prof. Dr. KÖKSAL BALOS 

Üye: Prof. Dr. GÜRHAN CAĞLAYAN 

Üye: Prof. Dr. ERHAN FIRATLI

Üye: Yrd. Doç. Dr. İNCİ DEVRİM 

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.


Prof. Dr. Sait BİLGİÇ
Enstitü Müdürü

iii TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim sürecince her aşamada desteğini ve yardımlarını yanımda bulduğum, hem bilimsel hem de sosyal yönünü kendime örnek aldığım, hocam olması sıfatıyla büyük saygı duyduğum ve aynı zamanda ailemden biri gibi çok sevdiğim sayın hocam Doç.Dr. Gökhan AÇIKGÖZ'e,

Anabilim dalımızın başarısı için her konuda desteğini esirgemeyen ve tez çalışmamda büyük emeği olan sayın hocamız Prof.Dr. Köksal BALOŞ'a,

Lisans eğitimim döneminde periodontoloji felsefesini kavramama ve doktora alanı olarak seçmeme sebep olan sayın hocalarım Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D. öğretim üyelerine,

Tezimin laboratuvar aşamasında yardımlarını esirgemeyen O.M.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyeleri sayın Yrd.Doç.Dr. Banu EREN, sayın Prof.Dr. Zafer EREN ve araştırma görevlisi arkadaşlara,

Histolojik ve elektronmikroskopik incelemelerin yapılmasına olanak sağlayan ve destek olan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D. öğretim üyeleri sayın Prof.Dr. Deniz ERDOĞAN, sayın Doç.Dr. Candan ÖZOĞUL ve yardımları yanında dostluğunu da esirgemeyen sevgili arkadaşım sayın Dr. Neşe DEMİREZ'e,

Biyokimyasal incelemelerde yardımcı olan sayın Doç.Dr. Abdülkerim BEDİR, sayın Doç.Dr. Murat GÜNAYDIN ve sayın Yrd.Doç.Dr. Murat HÖKELEK'e,

İstatistik aşamasında yardım eden sayın Dr. Sevgi CANBAZ'a,

O.M.Ü. Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi sayın yönetici ve personeline,

Araştırma projemize destek veren O.M.Ü. Araştırma Fon Saymanlığına,

Yardım ve destekleri için sayın Doç.Dr. Aydan AÇIKGÖZ ve sayın Doç.Dr. Tamer TÜRK'e,

O.M.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D. akademik personeli; sayın Yrd.Doç.Dr. Umur SAKALLIOĞLU, sayın Yrd.Doç.Dr. İnci DEVRİM, sayın Yrd.Doç.Dr. Arzu B. ALKAN, sayın Öğr.Gör.Dr. Tuğrul KIRTILOĞLU, sayın Dr. Aydan KAYIPMAZ, sayın Dt. Musa ALDIKAÇTI, sayın Dt.E.Eser ACAREL, sayın Dt. Burcu ÖZKAN, sayın Dt. Feyza OTAN, sayın Dt. İlker KESKİNER, sayın Dt. Ümit YAVUZ'a,

Onları her zaman yanımda hissettiğim sevgili aileme,

Maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen sevgili eşim Dt. Ümit KELEŞ'e,

Ve tezimde emeği geçen herkese,

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

ABSTRACT**RADIOGRAPHIC, BIOCHEMICAL, HISTOPATHOLOGIC,
ULTRASTRUCTURAL EVALUATION IN LIGATURE-INDUCED
PERIODONTITIS AND EXPERIMENTAL LATHYRISM MODEL**

Gonca ÇAYIR KELEŞ, Ph.D. Thesis

University of Ondokuz Mayıs Samsun, September 2001

Lathyrism is characterized by defective collagen synthesis due to inhibition of lysyl oxidase which is essential for interfibrillar cross-linking. Lathyritic agent beta-aminopropionitrile (β -APN) accepted as a suitable agent for the study of connective tissue metabolism. The concept of creating acute and chronic bone defects with ligatures has provided the strongest acceptance to obtain periodontitis like lesions in animals. Our main purpose is to compare ligature-induced periodontitis with experimental lathyrism in the manner of radiographic, biochemical, histopathological, and ultrastructural methods.

In our study 45 Wistar rats weighting between 150-250gm were used. Ligature-induced periodontitis was created in 15 rats' molar teeth. Experimental lathyrism was obtained with daily subcutaneous injection of β -APN for 40 days in 15 rats. Fifteen rats were used as the control. At day 40, blood was taken by cardiac puncture, then all rats were decapitated. Activity of serum alkaline phosphatase were determined by optimum standart method. Left and right mandibles were dissected out; radiographs were taken, extraction test was performed on the right mandibular first molar. Histopathologic and ultrastructural evaluation was performed on the left mandibular molar teeth. Gingival biopsies taken from the same region were homogenized and IL-1 β levels was assessed using the ELISA method.

We observed the similar findings both in ligature-induced periodontitis and lathyritic group, unlike the control ones. Early results of our study suggest that the lathyritic rats might be used as an alternative model for experimental periodontitis.

SİMGELER VE KISALTMALAR

WHO:	Dünya Sağlık Örgütü
ECM:	Ekstrasellüler matriks
GAG:	Glikozaminoglikan
β-APN:	Beta-aminopropionitrile
MMP:	Matriks metalloproteinaz
IL-1:	İnterlökin-1
IL-1α:	İnterlökin-1 alfa
IL-1β:	İnterlökin-1 beta
IL-2:	İnterlökin-2
IL-6:	İnterlökin-6
IL-8:	İnterlökin-8
TNF-α:	Tümör nekrozis faktör alfa
TGF:	Transforming growth faktör
IFN-α:	İnterferon alfa
IFN-β:	İnterferon beta
DOS:	Dişeti oluğu sıvısı
PBS:	Fosfat tampon solüsyonu
ELISA:	Enzyme-linked immunosorbant assay
EDTA:	Ethylenediaminetetracetic acid

İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kollajenin yapısı ve tipleri	8
2.2. Kollajen makromolekülünün yapısı	10
2.3. Kollajen tipleri	10
2.4. Kollajenlerin doku dağılımları	12
2.5. Sert doku kollajenleri	13
2.6. Kollajenlerin biyosentezi	14
2.7. Deneysel lathyrismde histopatolojik ve ultrastrüktürel değerlendirmeler	27
2.8. Deneysel lathyrismde periodontal ligament	30
2.9. Enzimler	32
2.10. Enzim aktivitesinin belirlenmesindeki ilkeler	33
2.11. Spesifik enzimler-Fosfatazlar	33
2.12. Sitokinler	34
3.MATERYAL VE METOD	38
4.BULGULAR	44
5.TARTIŞMA	60
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	75
KAYNAKLAR	76
ÖZGEÇMİŞ	85

1.GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) tanımlamasına göre periodontitis, diş ve dişeti kenarı üzerinde biriken değişik sayı ve türdeki bakteri ve bakteri ürünlerinin etkisiyle ortaya çıkan, günümüzde de büyük diş kayıplarına sebep olan enfeksiyöz karakterli bir hastalıktır (WHO, 1987).

Hastalığın tüm toplumları etkilediği, hemen hemen her ırk ve kitlede epidemik tarzda diş kayıplarına sebep olduğu gerekçesiyle bu konu günümüzde hala WHO'nun özel çalışmaları arasında bulunmaktadır.

Günümüze kadar epidemiyolojik, klinik, biyokimyasal, immünolojik ve diğer çeşitli yöntemlerle incelemesi yapılmış olan periodontal hastalık, mevcut mikrobiyal yapının kalite ve kantitesinin çok farklı olması ve immünolojik anlamdaki değişkenleri ile araştırılan önemli konular arasındadır.

Başlangıçta epidemiyolojik ve klinik incelemelere ağırlık verilmiş, daha sonra deneysel modeller geliştirilerek insan ve hayvan deneyi çalışmalarına başlanmıştır. Periodontal hastalığın etiopatogenezinin tarihi içerisinde deneysel modellerin ağırlık kazandığı görülmektedir.

Deneysel periodontitis, akut defektlerin kronikleştirildiği veya defekt oluşturulmadan sağlıklı dokularda çeşitli yöntemlerle plak birikimi sağlandığı modeller kullanılmak suretiyle oluşturulmaktadır (Proye ve Polson, 1982; Novak ve ark., 1984; Eren, 1985; Aukhil ve ark., 1986; Caffesse ve ark., 1990). Deneysel periodontal hastalık oluşturulması ve defektlerin istenilen boyutta ve tarzda elde edilmesi amacıyla, diet ve günlük oral hijyen işlemleri gibi faktörlere bağlı olarak literatürde değişik kronikleştirme metodları kullanılmıştır.

Deneysel periodontitis ile ilgili yapılan araştırmaların hemen hemen tümünde kollajen yapının bozulması ortak bulguyu oluşturmaktadır. Bu konu Pinchback ve ark. (1996) tarafından periodontal hastalıklarda hastalığın şiddetiyle

doğru oranda kollajen matrikste büyük oranda yıkım meydana geldiği şeklinde açıklanmıştır.

DeneySEL periodontitis, seçilmiş deney hayvanlarında önceden uygulanan çeşitli operasyonlar sonrası yerleştirilen retansiyon yapıcı araçlar, özel diet uygulamaları ve mikrobiyal dental plak birikimi varlığında geliştirilmektedir. Deney süresi boyunca özel izlemeyi gerektirmesi, araştırma sresinin uzaması, bu sredeki olası deney hayvanı kayıpları ve periodontitis oluşumundan sonra yeni bir cerrahi uygulamanın gerekli olabilmesi sistemin dezavantajları olarak kabul edilebilir.

Bilindiği gibi bağ dokusu çeşitli hücreler ve hücreler arası boşluğu dolduran ekstrasellüler matriksten (ECM) oluşur. ECM yapısında kollajen, elastin, fibronektin, integrinler, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar (GAG) bulunmaktadır. Günümüzde organik matriksin patolojik yıkımında aktive olan matriksmetalloproteinazlar ile bunların endojenöz inhibitörleri arasındaki dengesizliğin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Gingival proteoglikanlar iltihaplanmadan etkilenirler, ancak bu etki kollajenlere oranla çok azdır (Genco ve ark., 1990; Bartold ve Narayanan, 1998).

Diğer taraftan lathyrogenler kollajen çapraz bağlantısını inhibe eden maddeler olarak bilinmektedir (Yamaguchi, 1992). zelleşmiş bağ dokuları üzerinde lokal ve sistemik faktörlerin etkisini incelemek için periodonsiyum ideal bir deneysel model oluşurmaktadır. Özellikle büyüme ve gelişme sırasında kollajenin hızlı devinimi ile karakterizedir, ayrıca çiğneme kuvvetlerine maruz kalmaktadır.

Lathyritic ajan olan beta-aminopropionitrile (β -APN)'in rat periodonsiyumu üzerinde oluşturduğu patolojik değişiklikler ilk olarak 1957 yılında rapor edilmiştir (Baden ve ark., 1983).

Osteolathyrogenlerin önceleri sadece kemiğin organik matriksi üzerine etkili olduğu düşünülmesine rağmen, aynı zamanda kalsiyum dengesi ve kemik mineral içeriğini de etkilediği açığa kavuşmuştur (Kemmm, 1976).

Lathyrogenlerle ilgili günümüze kadar yapılan sınırlı çalışmalarda periodontal ligament gerilme direncinde azalma, yapısında bozulma, periodonsiyum vaskülaritesinde artış ve alveol kemiği rezorpsiyonu ortak bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır (Chiba ve Ohkawa, 1980; Baden ve ark., 1983; Cho ve Garant, 1984; Ohshima ve ark., 1989). Buna bağlı olarak lathyrogenlere bağlı gelişen bu patojenitenin bir periodontitis modeli olup olmadığı ve ligatürle oluşturulan periodontitis modeline göre benzerlik ve farklılıkların çeşitli yöntemlerle araştırılmasının gerekli olduğu düşüncesindeyiz.

Yapılan literatür incelemesinde ülkemizde lathyrogenlerle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yurtdışında yapılan çalışmalarda izleyebildiğimiz ölçüde lathyrisim ile ilgili sınırlı araştırma bulunmakla birlikte, lathyrisim ve ligatürle oluşturulan periodontitis modeliyle ilgili ortak ve birbirleriyle kıyaslanan bir araştırmanın olmadığı gözlenmiştir. Bu nedenle daha önce incelenmemiş olan bu konuyu irdelemek ve bu modellerde meydana gelen doku değişikliklerini kontrol grubuyla karşılaştırmalı olacak şekilde radyografik, biyokimyasal, histopatolojik ve ultrastrüktürel yöntemlerle incelemek ana amacımızı oluşturmaktadır.

2. GENEEL BİLGİLER

Dişleri çevreleyen ve destekleyen dokular periodonsiyumu oluşturmaktadır. Periodonsiyum dişeti ve periodontal ligamentin oluşturduğu iki yumuşak bağ dokusu, alveol kemiği ve sementin oluşturduğu iki sert bağ dokusundan meydana gelmiştir. Bu periodontal dokuların herbiri ayrı biyokimyasal kompozisyon ve bağ dokusu yapısından oluşmaktadır.

Periodonsiyumun önemli fonksiyonları dişleri çevrelemek ve çiğneme kuvvetlerine karşı koymaktır.

Periodontitis, diş yüzeyi üzerine tutunan, düzenli ağız bakımı yapılmadığında oluşan mikrobiyal dental biofilm tabakası içerisindeki mikroorganizma topluluklarının önce marjinal dişeti, daha sonra derin dokulara yayılarak dişeti birleşim epitelini, periodontal lifleri ve alveol kemiğini hasara uğratarak gelişen dünyanın en sık izlenen iltihabi hastalığı olarak tanımlanır (Page ve Schroeder, 1976; Newman ve ark., 1978; Moore ve ark., 1982; Socransky ve Haffajee, 1988; Ebersole ve ark., 1993; Listgarten, 1984; Offenbacher,1996; Tonetti, 1997). Bu hastalık tedavi edilmediği takdirde, kronik seyirli olarak dişlerin tutucu apaneylerini tahrip ederek kayıplarına sebep olur.

Yüzyılı aşan bir zamandır klinisyenler ve araştırmacılar hayvan modellerini periodontal hastalığın incelenmesinde kullanmaktadırlar. İlk çalışmanın 1899 yılında Talbot ile olduğu belirtilmiştir. O günden başlayarak günümüze kadar fareler, ratlar, domuzlar, koyunlar ve maymun türleri bu amaçla kullanılmıştır. Periodontitis mekanizması ile ilgili çok sayıda veri bu çalışmalarda ortaya konmuştur (Page, 1988).

En iyi tanımlanacak hayvan modelinin elbette insan periodontitisini tüm özellikleri ile temsil eden yapıda olması gerekir. Bu nedenle değişik türler arasında incelemeler yapılarak aradaki farklar ortaya konmakta ve insan periodontal hastalığı ile ilişkilendirilmektedir (Page, 1988).

Periodontitis bütün memeli türlerinde genellikle ortak özellik göstermektedir. Tüm türlerde bakterilerin çoğaldığı ve bunların dişlerin apikali yönünde hareket ettikleri, böylece dişeti cebi ya da kemik içi defektler oluşturdukları, periodontal ataşmanda yıkım ve alveol kemiğinde degradasyona neden oldukları kabul edilmektedir. Bütün bu ortak karakteristiğe rağmen türlere göre farklılık gösterdiği yönler de bulunmaktadır. Bu tür farkların nedeni de memelilerin boyut, yaşam süresi, diet, alışkanlıklar, büyüme hızı, daha az oranda da diş ve çevre dokularının yapıları ile ilgilidir (Page, 1988).

Ligatüre bağlı periodontal hastalık, farklı tedavi stratejilerini ve periodontal hastalığın şiddetini etkilediği düşünülen çeşitli faktörleri araştırmak amacıyla çeşitli deney hayvanlarında yaygın biçimde kullanılmaktadır (Sallay ve ark., 1982; Breivik ve ark., 2000). Ligatürün mekanik travması tek başına periodontitis oluşturmamaktadır. Ligatür yerleştirilmesinin mekanik irritasyon oluşturan ve plak oluşumunu hızlandırarak bakteri sayısının artmasına neden olan bir faktör olduğu bildirilmektedir (Györfi ve ark., 1994). Periodontitis oluşturmak amacıyla bu model çeşitli hayvan türlerinde uygulanmıştır. Shroeder&Lindhe (1975) köpeklerde, Rovin ve ark. (1966); Sallay ve ark. (1982)'de ratlarda bu yöntemle periodontitis oluşturmuşlardır.

Ligatür yardımıyla oluşturulan periodontitis modelinde, özellikle fareler ve ratlar gibi küçük deney hayvanlarında, molar dişler bölgesine ligatür yerleştirme işlemi için komissurektomi yapılmasının gerekliliği, operasyon esnasında çalışma zorluğu ve takip aşamasında özel dikkat gerektirmesi; lathyrogenler ve bu maddelerin periodonsiyuma etkilerini inceleme fikrinin doğmasına sebep olmuştur.

Biyokimyasal olarak lathyrogenlerin etki mekanizması tam olarak saptanmıştır: Bu ilaçların, kollajenin peptid zincirinde lizin ya da hidroksilizin aldehit grubuna dönüşmesini katalize eden lizil oksidaz enzimini inhibe ettikleri gösterilmiştir (Narayanan ve ark., 1972; Tinker ve Rucker, 1985; Ohshima ve ark., 1989). Nitekim lathyrogenler, aldehit üretimini ve kollajende çapraz bağlantı oluşumunu inhibe ederler (Ohshima ve ark., 1989). Lathyrogenler tarafından

gerçekleştirilen kollajenin çapraz bağlantısının inhibisyonunun özellikle yeni sentezlenmiş kollajende olduğu bildirilmiştir (Golub ve ark.,1968; Ohshima ve ark., 1989).

Lathyrogenler ayrıca diş destek mekanizmasını da etkileyebilirler (Shore ve ark., 1984). Lathyritic dişlerin oldukça kolay çekilebildiği ve aksiyal kuvvetlere karşı daha fazla mobilite gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca periodontal ligamentin gerilme direncinde azalma olduğu izlenmiştir (Berkovitz ve ark., 1972; Shore ve ark., 1984). Sürmüş dişlerde (kesiciler ve molarlar) 3 hafta sonra mobilite olduğu görülmüştür (Baden ve ark., 1983).

Lathyritic ajan olan β -APN'in yüksek dozu şiddetli sistemik lezyonlar ve yüksek ölüm oranı ile karakterize olan ve uzun dönem izlemeyi imkansız kılan akut intoksikasyon ile sonuçlanmaktadır. Periodontitis kronik seyir gösterdiğinden, akut lathyrism uygun bir deney modeli olmamaktadır. Deneysel kronik lathyrism modeli 1970 yılında Bouissou ve ark. tarafından tanımlanmış ve düşük doz β -APN uygulanmasının periodonsiyum üzerine etkileri hakkında bilgi verilmiştir (Baden ve ark., 1983).

Periodonsiyumu oluşturan dokuların ECM'leri çok sayıda fibröz ve non-fibröz proteinlerden oluşmaktadır (Everts ve ark., 1998). İnsan kemik yapısını ve iskelet sistemini bir yapı iskelesi olarak değerlendirdiğimizde, ekstrasellüler matriks (ECM) bu iskeleyi birbirine bağlayan ve ayakta tutan direnç ve tutma sistemi olarak değerlendirilmelidir. Mevcut hücrelerin yanısıra bağ dokusunun önemli bir kısmı ekstrasellüler çevreden oluşur. Bu bölgede ekstrasellüler matriks içindeki makromoleküller bulunmaktadır. ECM, hücreleri çepeçevre sararak hücrelerden daha çok yer kaplar (Cole ve Eastoe, 1996).

ECM'in yapısı incelendiğinde büyük oranda kollajenöz ve non-kollajenöz proteinleri içerdiği görülür. ECM'in non-kollajenöz bölümünü yapısal glikoproteinler olarak laminin, integrin, fibronektin, GAG ve proteoglikanlar oluşturmaktadır (Everts ve ark., 1998; Yamalık ve ark., 1998).

ECM proteinleri matriks içindeki hücreler tarafından lokal olarak salgılanırlar ve birçok dokuda bu hücreler esas olarak fibroblastlardır. Ancak bazı özelleşmiş bağ dokularında (örneğin; kıkırdak, kemik) kondroblastlar ve osteoblastlar tarafından da üretilirler. Üretilen bu makromoleküller ECM'in organize yapısına katılırlar. ECM'de değişik tiplerde, çok çeşitlilik gösteren matriks makromoleküllerinin bulunması ve bunların ECM'deki farklı organizasyon biçimleri özel dokulardaki fonksiyonel gereksinimler ile ilişkilidir. Matriks, kemik ve diş gibi dokularda kalsifiye, korneadaki gibi transparan ya da tendonlardaki gibi gerilim direnci oluşturacak şekilde organize olabilir (Cole ve Eastoe, 1998).

Ekstrasellüler protein fibriller bağ dokusunun en önemli ve en karakteristik içerikleridir. Daha önceden de söylendiği gibi protein molekülleri fibroblastlar tarafından sentezlenir ve ana madde içerisine salgılanır. Burada fizikokimyasal kuvvetlerin etkisi altında birim makromoleküllere çökelerek ve birleşerek organize olur, böylece ana madde fibrillerini oluştururlar. Hızlı şekilde kendilerinden olan büyük molekülleri meydana getirme özellikleri vardır. Biraraya geldiklerinde ise ayrı ayrı lifler ya da demetler halinde bağlar oluşturmak üzere meydana gelen bu yapı ana maddenin kendi saf haline göre çok daha dayanıklı ve fonksiyonel bir yapı oluşturur. Bu fibriller esas yapı itibarıyla mekanik gücü artırır (Cole ve Eastoe, 1998).

Bağ dokularında 3 tip ana fibröz proteinden bahsetmek mümkündür:

- Kollajen
- Retikülin
- Elastin

Kollajen memelilerde en fazla izlenen proteindir. Retikülin histolojik olarak ayrı bir yapı olarak tanımlansa da karbonhidrat ve lipidlerle birlikte oluşan kollajen ünitelerinden meydana gelmiştir. Elastin tamamen farklı bir proteindir, oluşması çok daha sınırlıdır. Büyük mekanik güce karşı koyulmasının gerektiği bölgelerde

fazla miktarda izlenir. Bunların başında da damar sistemi gelmektedir (Cole ve Eastoe, 1998).

2.1.Kollajenlerin Yapısı ve Tipleri

Yapısal özellikler:

Kollajen kelime olarak Latin kökenlidir, tutkal üreten anlamına gelir. ECM'in ana maddelerinden olan kollajen vücudumuzda en fazla bulunan proteindir ve bütün proteinin %30'unu oluşturur. Bu fibröz protein suyla ısıtıldığında hayvan tutkalı dediğimiz jelatini meydana getirir. Fakat jelatin yapısal olarak kollajeni taklit etse de sistematik yapısı nedeniyle suda eridiği ve jel meydana getirdiği için kollajenden farklıdır. Kollajen molekülü bütün omurgalılarda birbirinden farklıdır (Cole ve Eastoe, 1998).

Evrimin erken dönemlerinde izlenmeye başlamış ve yıllar içerisinde çok az değişmiştir. Bu da etkisinin ve düzeyinin optimum düzeyde olduğunu düşündürmektedir. Kimyasal analiz yöntemleri, X-ray diffraction ve elektronmikroskopik teknikler kollajen fibrillerin yapısını atomik düzeyden bağ dokusunu oluşturduğu düzeye kadar takip etme şansını vermiştir (Cole ve Eastoe, 1998).

Çok heterojen bir yapısı olduğu düşünülür. Kollajen molekülü olarak tanımlanabilmesi için, ECM'in yapısal bütünlüğü içinde yer alan bir yapı göstermesi gerekmektedir. Üçlü heliks yapısında olmalı ve diğer matriks içerikleriyle birleşmesi amacıyla molekül üstünde birleşmeyi sağlayacak fibriller, filamentler ve ağ sistemi içermelidir (Bartold ve Narayanan, 1998).

Kollajeni diğer matriks proteinlerinden ayıran çeşitli karakteristik

1-Üçlü heliks yapısı, α zincirleri olarak bilinen 3 polipeptid zincirden oluşmaktadır. Kollajenin tipine bağlı olarak; 3 aynı, 2 farklı veya 3 farklı α zincirlerinden oluşabilir. Üçlü heliks yapı devamlı olabilir ya da non-kollajen bölümlerle kesilmiş olarak bulunabilir.

2-Üçlü heliks yapı içerisinde, Gly-X-Y şeklinde olan devamlı aminoasit diziliminde, glisin her 3 pozisyonda bulunurken, X ve Y genellikle glisin dışındaki aminoasitlerden oluşmaktadır. Glisin kollajenin aminoasit yapısının yaklaşık olarak 1/3'ini meydana getirir. Dizi çalışmaları her üç kökten birinde glisinin varlığını göstermiştir, yani glisin üçlü-heliks yapısı oluşumu için gereklidir, çünkü geniş aminoasitler üçlü heliks yapının merkezine uygun değildir. Prolin sıklıkla X ve Y pozisyonlarında bulunur.

3-Kollajen, glisin dışında hidroksiprolin (Hyp) ve hidroksilizin (Hyl) gibi 2 benzersiz aminoasit içermektedir. Omurgalı kollajenlerde bu aminoasitler Y pozisyonunda bulunmaktadır. Kollajenin biyosentezi sırasında hidroksiprolin ve hidroksilizin protokollajen zincirine bağlanırlar, bağlantı prolin ve lizin olarak gerçekleşir ve polipeptid zinciri oluşur oluşmaz hidroksile olurlar. Hidroksiprolin prolinen derive olur ve proteinlerin iminoasitlerini oluşturur. Hidroksiprolin ve hidroksilizin kollajen dışında diğer proteinlerde bulunmaz.

4-Kollajenin en önemli özelliği iminoasit içeriğinin diğer bütün proteinlerden daha fazla olmasıdır. Prolin ve hidroksiprolin, köklerin yaklaşık olarak 2/3'sini oluşturur. İminoasit ünitesinin olduğu her yerde, polipeptid zincirin bağlarında, rijit pirolidin halkasının etkisiyle serbest rotasyon oluşması zorlaşır. Sonuçta bu bölgede zincirin oldukça dayanıklı bir hale dönüştüğü düşünülür.

5-Kollajen polar yan zincirlerle yüksek oranda ve lipofilik yan zincirlerle düşük oranda aminoasit içeren hidrofilik bir proteindir. Hidroksiprolin ve hidroksilizin bu etkiyi arttırmakta ve diğer globuler proteinlerde olduğunun aksine katlanmayı önleyerek kendine sağlıklı olarak büyüyecek uygun bir çevre yaratmaktadır.

6-Keratinin aksine kollajen çok az türde aminoasitin çok büyük miktarlarda biraraya gelmesi ve geride de çok az aminoasit kalmasıyla tanınır.

7-Aminoasitlerin toplam sayısı yan zincirleriyle birlikte serbest karboksil grupların aminoasitlerinden çok az bir miktar daha fazladır. Kollajen bu nedenle pH'ı 9,4 olan bölgede izoelektrik noktası olan temel bir proteindir.

8-Glikoz ve galaktoz, çözünebilir ve çözünmeyen omurgalı kollajenlerine kovalent bağlarla bağlıdır ve ikisi birlikte kuru ağırlığın %0.4'ünü oluşturur. Böylece kollajen, düşük oranda karbonhidrat taşıdığından glikoprotein olarak da kabul edilebilir (Bartold ve Narayanan, 1998; Cole ve Eastoe, 1998).

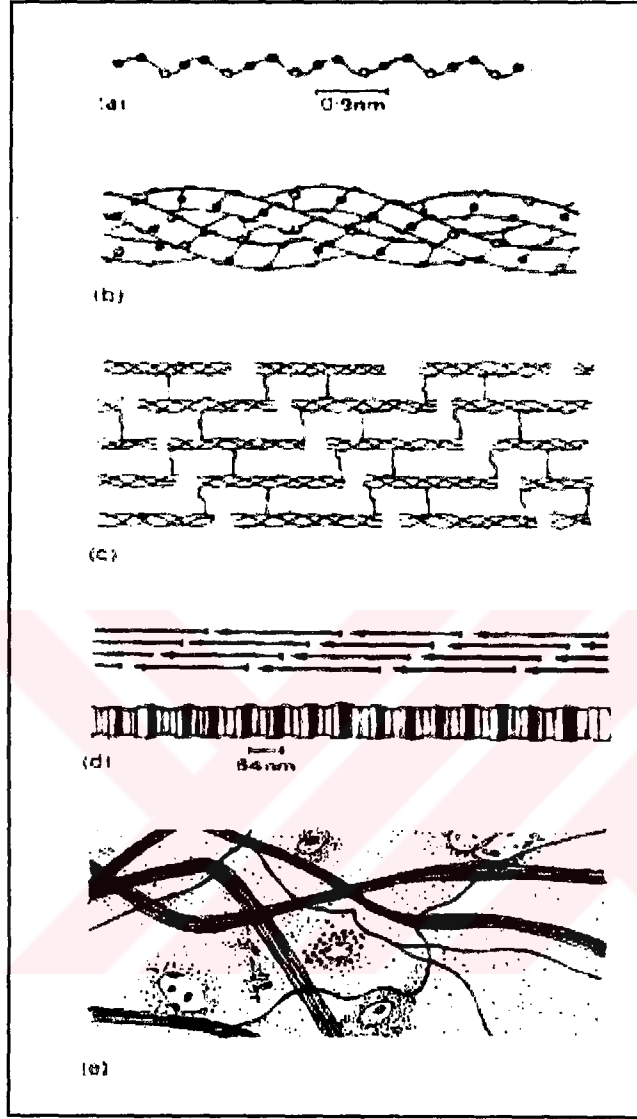
2.2.Kollajen Makromolekülünün Yapısı

Kollajenin birim polipeptid zinciri yaklaşık olarak 1000 aminoasit kökü içerir, ancak bu arada tropokollajen makromolekülü 3 polipeptid zincirinden ve 3 polipeptid zincirin sarmal şekilde 3 boyutlu olarak kıvrımından oluşur (Şekil 1) (Cole ve Eastoe, 1998).

2.3.Kollajen Tipleri

Kollajenler geniş bir protein grubudur. Bugüne kadar en az 19 farklı kollajen tipi tanımlanmıştır. Bu kollajenler fibril oluşturabilme özelliklerine göre 3 gruba ayrılırlar.

En kolay tanımlanabilen kollajen formu band şeklinde olan fibrillerdir ve bunlar fibril-oluşturan-kollajenler olarak isimlendirilmektedir. Tip I (kemik), tipII (kıkırdak), tip III,V ve XI bu gruba bağlıdır. Bu moleküller içinde üçlü heliks bölgesi, her α zinciri içerisinde kesilmemiş 338-343 adet Gly-X-Y üçlüsü içermektedir ve molekül $15 \times 3000 \text{Å}^{\circ}$ ölçüsündedir. Sıralı ve birbirine bağlı fibrillerdir (Bartold ve Narayanan, 1998).



Şekil 1. Artan boyut büyüklüklerinde kollajen yapısının görüntüsü

- (a) Protokollajenin tek heliks zinciri
- (b) Üçlü helix
- (c) Bir kollajen fibrilin bölümleri
- (d) Daha düşük magnifikasyonda kollajen fibrilin bölümleri
- (e) Bağ dokusunda izlenen kollajen fibril demetleri

İkinci grup kollajenler non-kollajen bölümlerle kesilmiş olan kollajenöz bölgeler içermektedir. Bu kollajenler fibril oluşturan kollajenlerin yüzeyiyle ilişkilidir. Bu grup; üçlü heliks ile kesilmiş fibril ilişkili kollajenler (FACIT), tip IX, XII, XIV ve tip XVI kollajenleri içermektedir. Tip IX, XII ve XIV kollajenler proteine kovalent olarak bağlanmış GAG içerdikleri için diğerlerinden farklıdır (Bartold ve Narayanan, 1998).

Diğer non-fibriler kollajenlerin tümü üçüncü grubu oluşturmaktadır. Bu grupta; ağ oluşturan kollajenler (tip IV, VIII, X) bulunur. Bunlar; boncuklaşmış tip (tip VI) ve anchoring fibriller (tip VII)'dir. Bu kollajenler dokuları ve organizmaları kaplayan protein membranları oluşturabilirler (Bartold ve Narayanan, 1998).

Fibriler kollajende Gly-X-Y çok yoğun bulunur ve hatta herbir kollajen molekülünde bazen yaklaşık 333 tekrara kadar çıkabilir. Eğer bu tekrarlar sırasında kesintiler olursa, ki bunlar imperfeksiyon olarak bilinir; glisin merkezden kaçarsa, heliks yapı stabilitesini kaybeder ve kıvrım gösterir. Fibriler kollajende normalde imperfeksiyon bulunmaz, fakat non-fibriller kollajende çok sayıda imperfeksiyon

Yoğun bağ dokularını oluşturan kalsifiye dokular içerisindeki kemik dokuda, tip I kollajen hakimdir ve tip III, V, XII, XIV kollajenler oldukça düşük miktarda bulunmaktadır. Kıkırdak dokuda tip II kollajen en önemli fibril oluşturan kollajendir, tip XI ve IX, XII gibi FACIT gibi kollajen tiplerini de içermektedir. Bu dokularda tip II kollajen mekanik direnç için gerekli olurken, tip IX kollajen kıkırdak dokunun eklem yüzeylerini kaplamasında sürtünmenin az oluşması için görev almaktadır. Tip IV kollajen sadece bazal membran yapısında bulunmaktadır (Tinker ve Rucker, 1985; Bartold ve Narayanan, 1998).

Gingival bağ dokusunda olduğu gibi periodontal ligament ECM'inin en önemli kollajeni tip I kollajendir (Bartold ve Narayanan, 1998).

2.5.Sert Doku Kollajenleri

Mezodermal dokulardan kemik, dentin ve sement kimyasal yapıları açısından birbirlerine benzerdir ve hepsi kalsifiye kollajen olarak kabul edilir. Böyle kabul edilmelerinin en büyük nedeni yapılarını oluşturan temel organik kapsamın protein-kollajen olmasıdır. Örneğin, kıkırdak bir başka mezodermal doku olması ve kollajen içeriğine rağmen diğer üç dokudan farklı olarak kondroitin sülfat içeriğinin fazla olması nedeniyle ayrı özelliklere sahiptir (Cole ve Eastoe, 1998).

Mineralize bağ dokusunda kollajen esas organik kapsam olduğu için yumuşak dokulardaki kollajenden ayrı olduğu düşünülebilir. Ancak gerçekte sert ve yumuşak doku kollajenleri yapısal özellikleri ve aminoasit kapsamı açısından birbirlerine benzerdir (Cole ve Eastoe, 1998).

Elektronmikroskopik çalışmalar hem yumuşak hem de sert dokuda kollajenlerin 64nm'lik aralıklarla sıralandığını göstermektedir. Kemik ve dentin kollajenleri yumuşak doku kollajenlerine oranla çok daha gelişigüzel dağılmışlardır ve fibröz elemanların görülebilmesi için çok daha yüksek magnifikasyona ihtiyaç vardır (Cole ve Eastoe, 1998).

Sert dokulardaki kollajen molekülleri fibril içerisinde birbirlerine 0.6nm uzaklıkta iken yumuşak dokularda 0.3nm uzaklıktadır. Kemik ve dentindeki kollajen yumuşak doku kollajenine oranla çok daha stabildir. Çözünebilir kollajeni sert dokudan çıkarmak oldukça zordur. Sert doku kollajenlerinin daha yüksek oranda stabil olmasını altında yatan en önemli faktör yüksek oranda çapraz bağlantılı kollajen içermeleridir (Cole ve Eastoe, 1998).

2.6.Kollajenlerin Biyosentezi

Kollajen sentezinin safhaları:

Kollajen sentezi şekil 2’de gösterilen sentez aşamalarındaki değişim ya da kimyasal modifikasyondan etkilenmektedir. Kollajen sentezinin hızı kollajene spesifik mRNA seviyesine bağlıdır. Fibroblastlarda poliribozom gruplarının oluşumu aktif kollajen sentezi ile ilişkilidir (Tinker ve Rucker, 1985).

Bu işlem enerji ve protein beslenmesinden etkilenmektedir. Poliribozomların toplanamaması, nisbeten azalmış kalori alımının temel sonucudur. Fakat bazı araştırmalar, bağ dokusu protein sentezinin serum protein sentezinden daha az oranda bu olaya maruz kaldığını bildirmişlerdir. Prolin gibi spesifik aminoasitlerin ve mRNA’nın intrasellüler boyutunun kollajen ribozomal topluluğunun kontrolünde önemli olduğu düşünülmektedir. Doku prolin topluluğu hastalık durumunda sıklıkla artar ve bu durumda fibrozis ile sonuçlandığı düşünülür (Tinker ve Rucker, 1985; Cole ve Eastoe,1998).

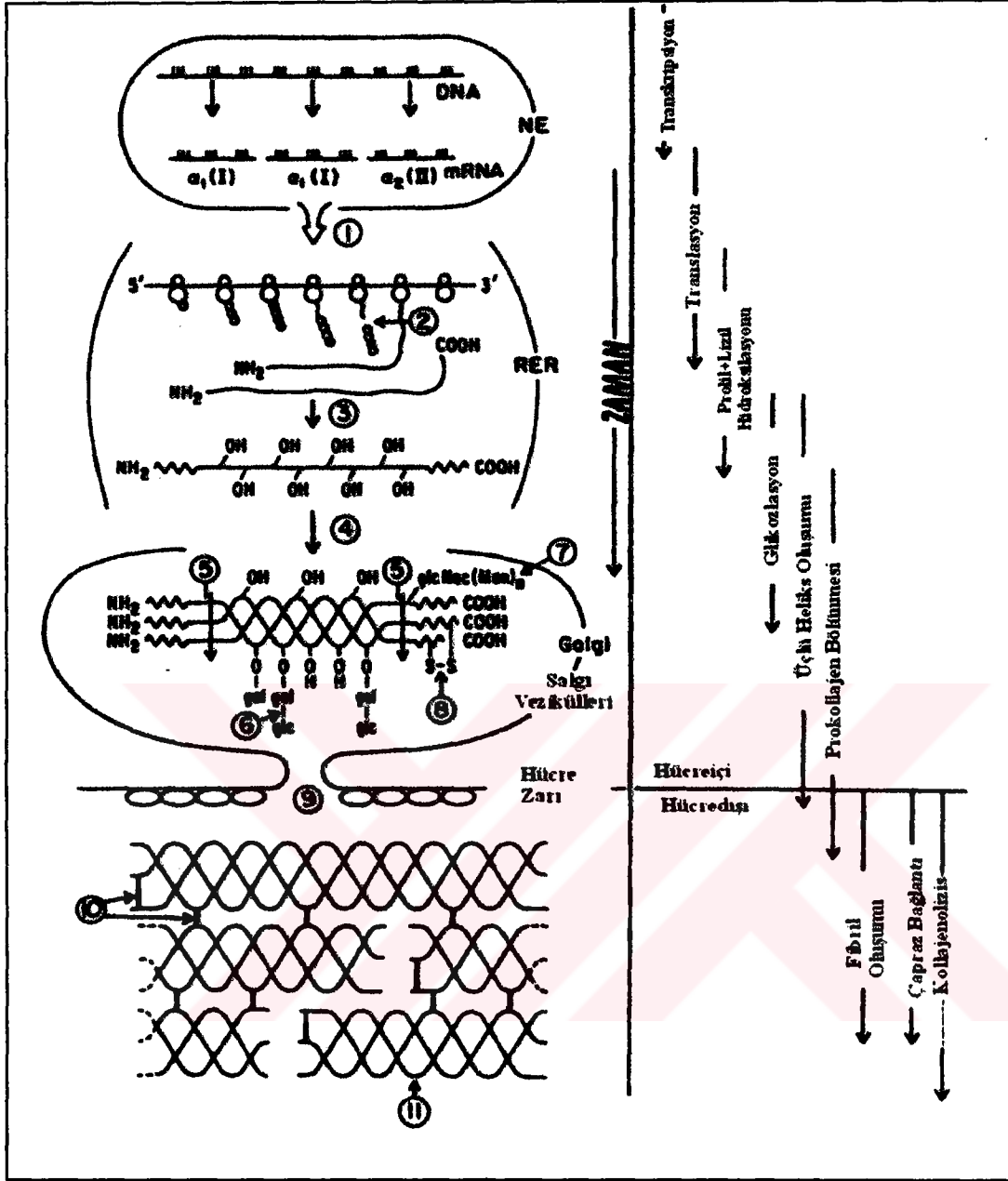
Kollajen sentezi bir dizi biyolojik yapının oluştuğu ilgi çekici bir biyolojik mekanizmadır. Kollajenin biyosentezindeki basamaklar kısaca özetlenecek olursa, peptidler genellikle granüllü endoplazmik retikulumda oluşturulur. mRNA’larla gelen sinyal tam bu dönemde gelir, alınır, bu dönemde nöropeptidlerin etkin olduğu görüşü vardır. İntrasellüler taşınma sırasında başlangıç kollajen translasyon ürünleri kapsamlı bir şekilde modifiye olur, örneğin; prolin ve lizin kökleri hidroksile olur

ve hidroksilizin kökleri glikozile olabilir (Tinker ve Rucker, 1985; Cole ve Eastoe,1998).

Kollajen yapısında hidroksiprolin total aminoasit köklerin %10–15'ini oluşturmaktadır. Hidroksiprolin fizyolojik ısıda kollajenin tek heliks yapısı tarafından stabilize edilmeye ihtiyaç duyar. Hidroksile olmamış kollajen polipeptid zincirleri, proteinazlar tarafından hızlı bir şekilde intrasellüler degradasyona maruz kalırlar (Tinker ve Rucker, 1985; Cole ve Eastoe,1998).

Aynı zamanda lizil ve prolil hidroksilaz tarafından prolin ve lizin hidroksilasyonu bu dönemde gerçekleştirilir. Polipeptid zincirleri sentezlenir, sentezlendikten sonra yoğun bir modifikasyona uğrar. Hidroksile olmamış prolin ve lizin içeren ve protokollajen olarak isimlendirilen yapı fibroblastların ribozomlarında biraraya gelirken, prolin ve lizin hidroksilasyonu zincir içerisinde oluşur. Günümüzde henüz tam olarak bilinmemekle birlikte yeni oluşan zincirlerde prolin ve lizin köklerinin ribozomlara tutunduğu söylenir. Prolinin hidroksilasyonu prolil hidroksilaz tarafından katalize edilir. Kural olarak bu enzim pek çok kollajende oluşan üçlü dizilimin, Gly,X,Y'nin Y pozisyonundaki prolin köklerini tanır. Açık bir şekilde, hidroksilasyon büyümekte olan polipeptid zincirlerinin amino sonlanmaları granüllü endoplazmik retikulumun sisternesına girer girmez başlar ve polipeptid zincirlerinin salınmasından hemen sonra tamamlanır. Hidroksile olmuş prolinler birbirlerine hidrojen bağlarıyla bağlanabilirler (Tinker ve Rucker, 1985; Cole ve Eastoe,1998).

Prolin köklerine ilave olarak, kollajendeki seçilmiş lizin kökleri de, prolil hidroksilasyon mekanizmasıyla analog şekilde hidroksile olur. Lizil hidroksilaz genellikle Gly,X,Y peptid diziliminin Y pozisyonundaki lizin köklerinin hidroksilasyonunu katalize eder. Prolin hidroksilasyonu ile birlikte hidroksilizin oluşumu, ribozomlardan peptid salınmasından sonra bir süre daha devam eder (Tinker ve Rucker, 1985; Cole ve Eastoe,1998).



Şekil 2. Kollajen biyosentezinin safhaları (Tinker ve Rucker, 1985)

1. Kollajene spesifik mRNA'nın transkripsiyonu
2. Translasyon
3. Prolil ve lizil hidroksilasyonu
4. Heliks oluşumu
5. Limitli proteolizis
6. O-glikozilasyon
7. N-glikozilasyon
8. Disülfidril bağ oluşumu
9. Fibronektin ile yönlendirilen fibril oluşumu
10. Çapraz bağlantı
11. Fibril olgunlaşması ve son kollajenolizis

Lizil ve prolil hidroksilaz enzimleri için kofaktör görevi yapabilecek faktörler askorbik asit ya da demir iyonlarıdır. Askorbik asit eksikliği bu enzimleri inhibe eder. Askorbik asit eksikliği aynı zamanda üçlü heliks yapının çözünme ısını düşürür ve molekül dirençsiz hale gelir. Kollajen askorbik asit eksikliğinde yetersiz hidroksile olur. Askorbik asit eksikliğin yanı sıra, çeşitli hormonal faktörler, antiinflamatuvar steroidler, ve inflamatuvar hastalıklar da lizil ve prolil hidroksilaz aktivitelerini etkileyebilirler (Tinker ve Rucker, 1985; Bartold ve Narayanan, 1998).

Hidroksilizinlerin enerji metabolizmaları ve glikolizasyonları henüz tam olarak açıklanmamıştır. Prolin köklerini hidroksile edecek faktörler henüz tam anlaşılmamakla birlikte enzimin serbest prolin üzerine etkisinin olduğu düşünülmektedir ve sadece glisin tarafında bulunanların hidroksile olabileceği üzerinde görüşler bildirilmektedir. Farklı bir enzim tipinin lizinin hidroksilasyonundan sorumlu olduğu da düşünülmektedir (Cole ve Eastoe, 1998).

Protokollajen zincirleri fibroblastların içinde sentezlendikten sonra yaklaşık %20'si tropokollajenin α zincirlerinden uzun hale gelirler ve bu uzun oldukları durumda üçü biraraya gelerek üçlü heliks oluştururlar. Bu dönemde galaktoz ünitelerinde daha fazla modifikasyon oluşur ve hidroksilizin köklerine glikozidik bağlantı sağlanır. Bu glikozile olmuş uzantılı üçlü heliks formu hidroksile olduktan sonra prokollajen olarak tanınır. Bu yapı daha sonra fibrilogenезisin oluşacağı ECM'e salgılanır. Tropokollajen ünitelerinin kümeleşmesinden önce prokollajende bu gibi değişiklikler meydana gelmiş olur (Cole ve Eastoe, 1998).

Her üç zincir kendi kendine birleşir, disülfid bağları oluşur ve her trimerde bir karboksiden amin sonlanmasına giden bir yapılanma oluşur, bu yapı ECM'e verilir. ECM'e girdikten sonra hem amin hem de karboksil uçların parçalanabilmesi için proteazlara gereksinim olur ve tekrar fibril yapımında kullanılır. Hidroksilizinler tam bu dönemde kovalent çapraz bağlar oluşturarak stabilize

edilebilecek bir fibril yapısı oluştururlar, bazen de fibrilleri fibrillerle birleştirirler (Tinker ve Rucker, 1985; Cole ve Eastoe,1998)

Kollajenin prokollajenden sonraki en önemli yapısı fibril yapısıdır. Çok sayıda tropokollajen molekülünün biraraya gelmesiyle oluşur. 20-100nm kalınlığında ve sonsuz uzunluğa sahip olan bir yapısıdır. Elektronmikroskopik analizler 64nm'de bir tekrarlayan karakteristik çapraz sıralanmalardan bahsetmektedir. Fibriller hafif şekilde esnek yapılar olarak izlenir ve doku boyunca hafif bir kıvrım gösterirler. Makromolekülleri sentezleyen fibroblastları takip eder tarzda oluştuğu da düşünülmektedir. Fibriller genellikle optik mikroskopta izlenebilir tarzda paralel demetler şeklinde meydana gelirler ve bağ dokularına kendi özgün doku karakterini verirler. Fibrilogenesis bölge bölge tropokollajen ünitelerinin biraraya gelmesinden oluşan ekstrasellüler bir işlemdir. Oryantasyon ve makromoleküllerin birbirine olan çekimi makromoleküllere komşu olan yüklü gruplarda bulunan iyonize zincirlerdeki elektrostatik kuvvetlerle meydana gelir. Elektrostatik kuvvetlere ilaveten hidrojen bağlanması ve hidrofobik bağlantı makromolekülleri birarada tutmada ve fibrilleri biraraya getirmede özel öneme sahiptir (Cole ve Eastoe,1998).

Çapraz bağlantı işleminin ilk aşaması lizin (ya da hidroksilizin) köklerinin allizin (ya da hidroksiallizin) olarak bilinen aldehite dönüşmesi ve bunu takiben ikili bağ oluşumu ile birlikte farklı hidroksilizine dönüşmesi ve suyun eliminasyonudur. Aldehitlere bağlı olan çapraz bağlantının varlığı, nadir bir hastalık olan ve toksik içeriği fazla Lathyrus odoratus tohumlarının (γ -glutamylaminopropionitrile) tüketilmesine bağlı olarak gelişen lathyrism'in etiolojisini açıklamaktadır. Bu hastalıkta bağ dokuları yüksek su içeriği ve zayıf kollajen yapı içermektedir. Aminoacetonitrile gibi çeşitli organik nitrillerin suni olarak verilmesiyle de bu durum oluşabilir. Organik nitriller tropokollajen molekülünün sentez ve yığılmasını etkilemezler, ancak lizine ait serbest aminogrupların aldehite dönüşmesini ve dolayısıyla stabil çapraz bağların ve kollajen olgunlaşmasının oluşmasını engellerler. Olgunlaşmış olan kollajene etkileri yoktur. Bu işlemden rol alan lizil oksidaz enzimi bakıra kofaktör olarak ihtiyaç

duymaktadır, bakır eksikliği durumunda kollajen molekülleri zayıf çapraz bağlar yaparlar (Tinker ve Rucker, 1985; Cole ve Eastoe, 1998).

Kollajenin veziküller içerisinde paketlenmesini içeren aşamalar ve bunların hücre yüzeyine geçişi beslenme durumları nedeniyle modifikasyona maruz kalabilir. Çinko ve vitamin gibi çeşitli beslenme yetersizliklerinden etkilenebilir (Tinker ve Rucker, 1985).

Diğer ekstrasellüler proteinler organizasyon ve kollajen sentezinin son aşamasında yer almaktadır. Laminin, entactin, ve fibronektin gibi tüm ekstrasellüler proteinler matris içeriklerini organize eder ya da hücre adezyonunu yönlendirirler. Fibronektinin bir görevi de kollajen fibrillerin organizasyonuna yardımcı olmaktır. Fibronektin tüm kollajen sentezleyen hücrelerin yüzeyinde bulunmaktadır (Tinker ve Rucker, 1985).

Kollajen, bağ dokusunun önemli gerilme yapısını oluşturmaktadır (Sodek, 1976). Kollajen fibrillerin gerilme direnci, tropokollajen altünitelerinin aynı şekilde paketlenmesi ve intermoleküler çapraz bağlarla sıkı bir şekilde tutunmasından kaynaklanmaktadır (Bailey ve ark.,1974; Sodek, 1976). Kollajen fibriller bağ dokularının ECM'i için iskelet görevi görmektedir, fakat rijit yapıları nedeniyle rezorpsiyon ve sentez ile remodelasyona uğramaktadırlar, bu da bağ dokularının boyut, şekil ya da biyofiziksel özelliklerinde değişikliğe neden olmaktadır. Ratlarda yapılmış pek çok çalışmada, gelişmekte olan hayvanlarda kollajen deviniminin oldukça hızlı olduğu gösterilmiştir (Sodek, 1976). Ayrıca yetişkin hayvanlarda devinim hızının; hamilelik sırasında uterus, yara iyileşmesi olan bölgeler (Grillo ve ark., 1958; Sodek, 1976) ve bazı patolojik durumlar gibi kollajen deviniminin hızlı olduğu durumlar dışında, oldukça azaldığı bildirilmiştir. Periodontal dokularda hızlı kollajen deviniminin dişleri desteklediğini savunan pek çok görüş bulunmaktadır. Bu görüşleri destekleyen deliller radyografik çalışmalardan kaynaklanmaktadır (Sodek, 1976).

Periodontal ligamentte kollajen sentez hızının dişetinden iki kat, deriden dört kat daha fazla hızlı olduğu iddia edilmektedir. Periodontal dokularda kollajen deviniminin hızlı olmasının sebebi tam olarak bilinmemesine rağmen, kollajen fibriller üzerine gelen özellikle çiğneme sırasındaki aralıklı okluzal kuvvetlerin önemli olduğu bildirilmiştir (Sodek, 1976).

Kollajen sentezi normal bağ dokusunun sağlanması ve tamiri için gereklidir. Kollajen üretiminde oluşacak olan sapma periodontal hastalıklardan başka aterosklerozis ve romatoid artrit gibi genel hastalıklarda da izlenen kalitatif ve kantitatif doku değişikliklerine yol açmaktadır. Fibroblastların, kollajenin ve diğer matriks içeriklerinin sağlanması ve deviniminden sorumlu olan en önemli hücreler olduğu bilinmektedir. Bu hücreler yetişkin bağ dokusunda normal şartlarda minimum büyüme gösterirken, patolojik durumlarda ve yara iyileşmesi sırasında artmış seviyede proliferasyon göstererek sentez yapabilecek şekilde aktive olurlar. Gingival fibroblastlar tarafından kollajen sentezini düzenleyen hücresel olaylar henüz tam olarak çalışılmamıştır. Serum ve enflamatuvar hücrelerden derive olan pek çok madde fibroblastların sentetik özelliklerini değiştirebilir, proliferasyon için fibroblastları aktive edebilir (Ko ve ark., 1981; Everts ve ark.,1996).

Yapılan çalışmalarda kollajenin bütün bağ dokularında hiç istisnaya uğramadan sürekli bir degradasyonla karşı karşıya olduğu gösterilmiştir. Bunun ötesinde, bu degradasyonun sadece yumuşak dokulardaki bağ dokusunda değil, aynı zamanda kemik ve kırık dokusu gibi mineralize dokularda da izlendiği bildirilmiştir. Yapılan in vitro çalışmalar fibroblastların çok sayıda kollajen degrade eden enzim salgıladıkları, bunlardan birinin de matriks metalloproteinaz1 (MMP1, kollajenaz) olduğu bildirilmiştir. Bu enzim, Gross ve Lapiere tarafından 1962'de tanımlanmış ve konak dokunun kendi ürettiği kollajen molekülüne etki edebilen az sayıdaki enzimlerden biri olduğu bildirilmiştir. Bu etkisi nedeniyle kollajenin degradasyonu için zorunlu enzim olarak kabul edilmektedir (Everts ve ark.,1996). Kollajenazın yanısıra fibroblastlar; jelatinaz (MMP2) ya da stromelisin (MMP3 ve MMP11), serin proteinaz (plasminojen aktivatör) ve sistein proteinaz (katepsin B ve L) enzimlerinden bir veya birkaçını morfogenez, iltihap ve metastaz gibi

durumlarda sentezlemektedir (Birkedal-Hansen, 1993; Everts ve ark.,1996). Ancak bu enzimlerin fizyolojik denge durumundaki görevleri hakkında az bilgi mevcuttur.

Günümüze kadar örneğin periodontal ligament gibi hızlı devinim görülen bir dokuda bu enzimlerle ilgili az sayıda çalışma bulunması enteresandır (Sodek, 1978). Belki de eldeki mevcut tekniklerle inceleme şansı, konsantrasyonun çok düşük olması nedeniyle zordur. Plazma membranına yakın bölgelerde degradasyon meydana geldiği ve salınımı takiben kollajenazın plazmin tarafından aktive edildiği bildirilmiştir (Everts ve ark.,1996). Bu nedenle sınırlı bölgelerde çok az miktarda enzimle, kollajen ve diğer matriks elemanları degrade olabilmektedir. Böylece hızlı devinimin olduğu dokularda kollajenazın varlığı düşünülmelidir. Ya da başka bir deyişle şu soru akla getirilmelidir: Bu koşullarda oluşan degradasyon bu enzim olmadan olabilir mi? Bugünkü bilgilerimizle bir diğer alternatif yolun varlığından bahsedebiliriz; şöyleki, bağ dokusu hücreleri tarafından kollajen fibrillerin sindirilmesi ve lizozimal aparatla fibrillerin yıkımı şeklinde olabilir (Melcher ve Chan; 1981). Kollajen sindiriminin, normal devinim ve bağ dokusunun yumuşak elemanlarının remodelasyonu için önemli olduğu bildirilmiştir (Everts ve ark.,1996).

Periodontal dokuların en önemli özelliklerinden birinin intrasellüler degradasyon tarafından sağlanan kollajen deviniminin hızı olduğu bildirilmiştir (McCulloch ve Bordin, 1991).

Kollajenin periodontal ligament (McCulloch ve Bordin, 1991) ve gingiva (Page ve Ammons, 1974) matriksindeki hızlı devinim özelliği, diş kökünün alveol kemiğine devamlı ataşmanı için gerekli olmaktadır. Kollajen degradasyonu, fizyolojik ve patolojik durumlarda bağ dokusunun devinim ve remodelasyon olaylarında gerekli olan bir basamağı oluşturmaktadır. Kollajen degradasyonunda 2 yol tanımlanmıştır (McCulloch ve Bordin, 1991):

- 1-Kollajenaza bağlı olan ekstrasellüler yol
- 2-Kollajenaza bağlı olmayan intrasellüler yol

Hastalık ve sağlık durumlarında bu yolların göreceli olarak kullanımıyla ilgili çok az bilgi mevcuttur (McCulloch ve Bordin, 1991).

Ekstrasellüler yolun tüm proteinaz sınıflarındaki proteinaz aktivitesine bağlı olduğu düşünölmektedir. Bu enzimlerin içerisinde kollajenaz en seçici olan ve en çok kabul gören kollajenolitik enzimlerden biridir. İntراسellüler yol, kollajen fibrillerin bağ dokusu hücreleri tarafından fagositozunu kapsamaktadır (Everts ve ark., 1989). Fibrillerin bir bölümünün hücre içine alınmadan önce, ekstrasellüler alanda kollajenaz tarafından sindirildiği de ileri sürölmüştür (Woesner, 1973; Everts ve ark., 1989). Ayrıca fagositoz olayını lizozomal organellerde, katepsin B,L ve/veya N gibi sistein proteinazların etkisiyle fibrillerin sindiriminin izlediği de bildirilmiştir (Everts ve ark., 1989).

İki yolun birlikte oluşabileceğine dair deliller de mevcuttur. Çeşitli bağ dokularında, normal ve enflamatuar durumlarda kollajenazın varlığı ve aktivitesi bildirilmiştir (Chowcat ve ark., 1988; Everts ve ark., 1989). Çeşitli bağ dokularında fibroblastlar tarafından kollajen fagositozu da gösterilmiştir (Listgarten, 1973; Beertsen ve Everts, 1977), ancak iki yol arasındaki ilişki henüz tam olarak açıklanamamıştır (Everts ve ark., 1989).

İntراسellüler yolun fizyolojik devinim olayında ne kadar payı olduğu konusunda soru ortaya atılmıştır. Degradasyondaki rolü konusunda pek çok spekülasyon yapılmasına rağmen (Beertsen ve Everts, 1977), gerçek önemini yansıtan çok az literatür bulunmaktadır (Everts ve ark., 1989).

Kemirici hayvan molarlarında yapılan morfometrik çalışmalarla (Listgarten, 1973; Beertsen ve Everts, 1977) periodontal ligamentte hücre içinde yaklaşık %0.15-0.9 kollajen fibril bulunduğu gösterilmiştir. Kollajenin lizozomlardaki degradasyon zamanının in vitro ve in vivo koşullarda eşit olduğu ve periodontal ligamentte fibriler kollajenin yarılanma ömrünün 1.5-7.0 günler arasında değiştii ifade edilmektedir.

Kemirici hayvan periodontal ligament fibroblastları farklı bir görüntü göstermektedirler, fizyolojik devinim ve remodelasyon olayları süresince degrade olmuş tüm kollajenlerin fagolizozom yolu içerisinde geçtiği bildirilmektedir (Everts ve ark., 1989; McCulloch ve Bordin, 1991). Ekstrasellüler olarak kapsamlı degradasyonun gerekli olmadığı düşünülmektedir (Everts ve ark., 1989). Şöyleki deneysel çalışmalar kollajenin normal deviniminin özellikle periodontal ligamentte hücre içi yolla olduğunu göstermektedir.

Kollajen sindiriminin mekanizmasıyla ilgili hala bir çok nokta bilinmemektedir. Bağ dokusu devinimi ve remodelasyonu hücre içinde olduğundan bundan sonraki çalışmaların büyüme faktörleri ve sitokinlerle takip edilmesi gerektiği düşüncesindeyiz. Farklı dokulardaki fagositozun değerlendirilmesi ise yeni ufuklar açacaktır. Fagositozu başlatan etkenler ve fibrilin fibroblastlar tarafından nasıl tanındığı önemli sorulardır.

Günümüzde hiçbir proteinaz tam olarak matriks deviniminde ve proteolitik olayların açıklanmasında öncül olarak adlandırılmamıştır. Bugünkü anlayışa göre özellikle iltihabi, prolifer ve yayılan hücre popülasyonlarının olmadığı durumlarda matriks makromoleküllerinin üzerindeki devinme ait rezorpsiyon işlemi bölgede uyarılan doku tipine ait hücrelerin sentezlediği metalloproteinazlar tarafından yapılır. Bu başlangıç ekstrasellüler makromoleküllere karşı yapılan atak önce ekstrasellüler degradasyonu tam yaygın hale getirir, daha sonra da fagositoz yoluyla intrasellüler degradasyonu başlatır. İşte bu işlem hem infiltratif iltihabi hücreler, hem mekanik hasar, hem de bakteriyel enfeksiyon tarafından indüklenip öncelikli hale geçirilebilir (Reynolds ve Meikle, 1997).

Enflamatuvar bir hastalık olan periodontal hastalıkta bakteriyel antijenler cep epiteline penetre olurlar ve ayrıca dokuya da invaze olarak immün reaksiyonu stimule ederler. İmmün sistemin bir kolu konak dokuyu savunmaya yararken, diğer kolu da savunma sırasında ortaya çıkan savunma moleküllerinin fazlalaşmasıyla bakteriler yerine dokunun kendisine zarar verir hale gelebilir. Özellikle hümöral immünitede plazma hücrelerinin çoğalması sonucunda bunu takiben gelişen

immünoglobulinler komplement yolunu hızlandırır, iltihabın şiddeti artar, bölgede araşidonik asit metabolitlerinden özellikle prostaglandinler ve bunun sonucunda da doku hasarına yol açan enzimler bölgede çoğalır. Diğer yandan hücrel immünitenin artması sonucunda ise özellikle T lenfositlerinden açığa çıkan sitokinler makrofaj aktivitesini yönlendirirler. Aktive olan makrofajlar ise çok sayıda sitokin bölgeye gelmesine ve sonuç olarak doku hasarına neden olurlar (Manson ve Eley, 2000).

Dünyanın en yaygın hastalıkları arasında yer alan, gelişmiş ve sanayileşmiş ülkelerde eğitim düzeyinin yüksek olduğu bireylerde bile ileriki yaşlarda diş kayıplarının hala en büyük nedeni olan periodontal hastalık mekanizması üzerindeki incelemeler ve bu hastalığın ilerlemesinin takibinde kullanılan histopatolojik yöntemlerin insan çalışmalarında kullanılamaması nedeniyle, hayvan modellerinde hastalığın gelişimi, ilerlemesi ile ilgili yapılan çalışmalar büyük önem kazanmıştır. Hayvan modellerinin kullanılması, etiopatogeneze yönelik mekanizmaları incelemenin yanısıra, diğer yandan hızla yaygınlaşan rejeneratif doku iyileşmesi, fonksiyonel rejenerasyonla ilgili çalışmalar ve ileriki yıllarda yara yeri iyileşmesindeki farklılıklara ışık tutacak genetik araştırmalar açısından da büyük önem taşımaktadır.

Birim grup örnekleme zorlukları, çalışmalarda kullanılacak kimyasal madde ve biyokimyasal analiz için gerekli olan kimyasal ajanların daha fazla olması gibi engeller gözönünde bulundurulduğunda deneysel çalışmalarda köpek ve maymunlar yerine fareler ve ratlar gibi küçük deney hayvanları popülarite kazanmaktadır.

Bilindiği gibi deneysel periodontitis oluşturmak amacıyla ligatürle plak birikimine zemin hazırlayan ve akut hazırlanan defektlerin zaman içinde yumuşak diyetle beslenmenin de etkisiyle kronikleştirilmesi yöntemi en çok kullanılmaktadır. Elde edilen bu modelde mikrobiyolojik çalışmalar (Samejima ve ark., 1990; Kimura ve ark., 2000), nörojenik komponentlerle ilgili araştırmalar (Györfi ve ark., 1994),

sitokinlerle ilgili incelemeler (Koide ve ark., 1995; Ebersole ve ark., 1999) yapılmıştır.

Deneysel periodontitis modelinde kollajen sentezinin inhibisyonu, iltihabi hücre infiltrasyonu ve kemik yıkımı izlenmektedir. Bu olguya benzer şekilde lathyrogen uygulaması ile elde edilen ve kollajen degradasyonu ile karakterize olan deneysel lathyrisim modeli özellikle dikkat çekmektedir.

Lathyrisim interfibriler çapraz bağlantıda rol alan lizil oksidaz enziminin inhibe edilmesine bağlı olarak gelişen hasarlı kollajen sentezi ile karakterize olan bir bağ dokusu hastalığıdır (Baden ve ark., 1983; Cho ve Garant, 1984; Shore ve ark., 1984). Lathyrisim, Lathyrus türleri ve bunların toksik içeriklerinin vücuda alınmasıyla oluşmakta, insanlar da dahil olmak üzere pek çok hayvan türlerini etkilemektedir. Lathyrisim terimi 2 patolojik durumu anlatmaktadır; bunlardan nörolathyrisim sinir sisteminin etkilendiği, osteolathyrisim ise daha çok bağ dokusunun etkilendiği şeklidir (Barrow ve ark.,1974; Baden ve ark., 1983).

Osteolathyrisim Lathyrus odoratus tohumlarının tüketilmesi ile ratlarda ve diğer laboratuvar hayvanlarında izlenebilir. Nörolathyrisim Lathyrus sativusun tüketilmesiyle oluşur; alt ekstremitelerde parsiyel ve total olarak paralizilere neden olabilir (Barrow ve ark.,1974; Jahan ve Ahmad, 1993; Khursheed ve Kamaluddin,1993).

Osteolathyrisim oluşumuna sebep olan beta-aminopropionitrile (β -APN) Selye tarafından 1957 yılında tatlı bezelye türlerinden (Lathyrus odoratus) izole edilmiştir (Cho ve Garant, 1984). Lathyritic ajan olan β -APN bağ dokusu metabolizma çalışmalarında büyük kabul görmektedir. Deneysel lathyrisim modelinin patolojik etkisi kırıldak, kemik, fibröz ve elastik bağ dokusu gibi kollajen içeriği fazla olan dokularda daha çok izlenmektedir (Baden ve ark., 1983).

Lathyritic ajanlarla ilgili yapılan çalışmalar organik matriksin çözülmesi ile sınırlı kalmamış; periodontal ligament gerilme direncinin değerlendirildiği (Chiba

ve Ohkawa, 1980; Ohshima ve ark., 1989), histolojik ve ultrastrüktürel etkilerinin incelendiği (Baden ve ark., 1983; Cho ve Garant, 1984; Shore ve ark., 1984), serum Ca, P ve alkalen fosfataza etkilerinin değerlendirildiği (Kemmer, 1976), kesici dişlerin sürmesine olan etkilerinin araştırıldığı (Berkovitz ve ark., 1972; Tsurata ve ark., 1974; Michaeli ve ark., 1975; Taverne ve ark., 1986), antiromatizmal ilaçların ve kalsitonin uygulanmasının lathyrisme etkilerinin incelendiği (Trnavska ve ark., 1968; Seyama ve ark., 1972) ve ortodontik diş hareketine olan etkilerinin değerlendirildiği (Yamane ve ark., 1997) çalışmalar da yapılmıştır.

In vivo olarak %0.03-1.0 oranında dietle alınan β -APN, lizil oksidaz aktivitesini etkili bir şekilde inhibe etmektedir. β -APN intoksikasyonunun belirtileri bakır eksikliğinde görülen belirtilere benzemektedir. Küçük deney hayvanlarında β -APN'nin yarılanma ömrünün yaklaşık 12-16 saat olduğu saptanmıştır. β -APN'nin dietle alınmasından 24-48 saat sonra lizil oksidaz enzim aktivitesinin normale döndüğü de bildirilmiştir (Tinker ve Rucker, 1985).

Periodonsiyum kollajenin hızlı devinimi ile karakterize olduğundan çeşitli faktörlerin özelleşmiş bağ dokuları üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalar için uygun bir çalışma modeli olmaktadır (Baden ve ark., 1983). Ayrıca devinim kabiliyetinin hızlı olduğu ileri sürülen periodontal kollajen fibrillerin (Sodek, 1976; Everts ve Beertsen, 1992), lathyrogenlerle hızlı bir şekilde bozulmaya maruz kaldığı düşünülmektedir.

Lathyrogenler kollajenin çapraz bağlantı olayını inhibe eden maddeler olarak bilinir ve kollajenin yüksek devinim hızının bulunduğu bağ dokularında bu ilaçlarla hızlı bir organizasyon bozukluğu görüldüğü bildirilmiştir (Yamaguchi, 1992).

Lathyrogenlerin çeşitli deney hayvanlarının bağ dokularının mekanik direncinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Ohshima ve ark., 1989; Yamaguchi, 1992). Örneğin; β -APN uygulanmasının farelerde ve ratlarda aortun gerilme direncini zayıflattığı ileri sürülmüştür (Ohshima ve ark., 1989).

β -APN uygulanması ile ortaya çıkan moleküler defektin patolojik etkisi daha çok; eklemler, kas yapışma bölgeleri ve fonksiyonel dişlerdeki periodontal ligament gibi fazla strese maruz kalan bağ dokularında izlenmektedir (Cho ve Garant, 1984).

β -APN'nin kemik dokusunda bulunan kollajene etkili olmadığı, sadece lathyrogen bulunduğu sentez edilen kollajene etkisi olduğu saptanmıştır (Golub ve ark., 1968).

2.7.Deneysel Lathyrisimde Histopatolojik ve Ultrastrüktürel Değerlendirmeler

Histopatolojik çalışmalarda fibroblastların periodontal ligamentin orta bölgesinde toplandıkları ve 10-20 hücreden oluşan topluluk oluşturdukları görülmüştür. Kollajen matriksin hücreden yoksun alanlarına komşu olan bu topluluk içerisindeki hücrelerin birbirine paralel olduğu izlenmiştir. Bu hücreden yoksun alanlar ve bunların hemen yanındaki fibroblast yoğunlaşması "lathyrityc body" olarak da tanımlanmaktadır. Bu yapının periodontal ligament fibroblastlarının asellüler amorf matriksi sınırlayacak şekilde, diziler halinde birikmesiyle karakterize olduğu bildirilmiştir (Baden ve ark., 1983; Cho ve Garant, 1984). Kontrol grubu deney hayvanlarında ise fibroblastların bütün periodontal ligament boyunca dağıldığı ve esas kollajen fibrillere paralel olarak oryante olduğu izlenmiştir (Cho ve Garant, 1984).

Elektron mikroskop seviyesinde fibroblastlarda golgi aygıtındaki küçük değişiklikler dışında, sitoplazmik organellerin normal fibroblastlara benzediği ve dolayısıyla β -APN uygulanmış fibroblastların genellikle sağlıklı izlendiği bildirilmiştir. Histolojik olarak en önemli farkın fibroblastların dağılımı ve düzenlenmesinde olan değişiklik olduğu gösterilmiştir. Kümeleşmiş fibroblastlar arasındaki intersellüler alanların genellikle oldukça dar ve kollajen fibrillerden yoksun olduğu saptanmıştır. Fibroblast topluluklarının bulunduğu bölgede kollajen rezorpsiyonu olduğu bildirilmiştir (Cho ve Garant, 1984).

β -APN uygulanan fibroblastlarda yeni sentezlenmiş kollajenin artmış olan çözünürlüğü nedeniyle sindirime duyarlı olabileceği ve böylece var olan kollajenaz aktivitesinin daha çok belirginleşebileceği bildirilmiştir (Cho ve Garant, 1984).

Lathyritic hayvanlarda özellikle alveol kemiğine komşu olan kan damarları bölgesinde tam olarak tanımlanamayan yapılarla birlikte lokalize dejenerasyon alanları izlenmiştir. Elektron mikroskopta bu bölgelerde sadece hücre debris olduğu görülmüştür. Lathyritic molarların periodontal ligamentlerinde ayrıca hücreden yoksun alanlar da saptanmıştır. Hücreden yoksun olarak izlenen alanların nasıl oluştuğu bilinmemektedir. Hücrelerin göç etmesi ya da lezyonun periferine doğru itilmesi olasıdır. Periodontal ligamentin tiksotrofik jel teorisine sahip olduğu ileri sürülmüştür. Bu teoriye göre, hyalinize ya da hücreden yoksun alanlar kollajen matriksin kıvamında basınca bağlı oluşan ve basınç alanından hızlı hücre göçüne neden olan değişikliklere bağlı olarak oluşmaktadır (Shore ve ark. 1984).

Hyalinizasyon terimi bağ dokusunun homojen ve amorf hale gelmesi ve histolojik boyaların çoğuyla cam benzeri halde kalmasını tanımlamak için kullanılmaktadır. Işık mikroskobunda lathyritic molar periodontal ligamenti hyalinize olarak görünmesine rağmen, elektron mikroskobunda incelendiğinde çok miktarda kollajen içerdiği gözlenmiştir. Bu kollajenin fibril çapının normal periodontal ligament kollajeninden daha küçük ($36,6\text{nm} \pm 1,3\text{SE}$) boyutta ve düzensiz olduğu bildirilmiştir (Shore ve ark., 1984).

Histopatolojik olarak gingivada transseptal fibril seviyesinde fibroblastların sayı ve niteliklerinde orta derecede artış izlenmiştir. Periodontal ligamentin merkezi veya alveolar kemikten başlamak üzere, fibroblastlar tarafından çevrelenmiş hyalinizasyon odakları not edilmiştir. Ayrıca alveol kemiği ve diş köklerinde rezorpsiyonlar da izlenmiştir. 6 haftaya kadar tipik lezyonlar tüm hayvanlarda görülmüştür. Işık mikroskobik bulgular, bölge dağılımı ve şiddete göre değişiklik göstermektedir. Patolojik durumun; mikrodolaşım, gingiva (transvers fibriller), alveolar krest, servikal sement, periodontal ligament, diş kökü, alveol kemiği (lamina dura, kortikal ve spongios kemik) ve kemik iliği (mast hücrelerinde

artış) olmak üzere tüm periodonsiyumu etkilediği bildirilmiştir (Baden ve ark., 1983).

Fibroblastik metaplazinin çeşitli safhaları izlenmiştir. Fibroblastların boyut olarak arttığı, oval formdan fusiform şekle dönüştüğü, bazofilik ve granular sitoplazma içerdiği saptanmıştır. Çekirdeklerin genişlemiş ve belirgin çekirdekçik ile hiperkromatik hale geldiği bildirilmiştir. Sement ve/veya dentinde rezorpsiyonlar izlendiği ve bu rezorpsiyonların bifurkasyon alanlarında apikal bölgeye göre daha sık olduğu saptanmıştır. Odontoblastların etkilenmediği görülmüştür (Baden ve ark., 1983).

Kemik rezorpsiyonu “lathyritic bodies”(atipik fibroblastların bulunduğu hyalinize alanlar) seviyesinde ve apikal bölgede olmak üzere alveolar kemikte ve lamina durada izlenmiştir (Baden ve ark., 1983).

Akut lathyrisimde normal diete dönülmesinden sonra 5 gün içerisinde periodontal lezyonlarda hızlı bir şekilde geriye dönüş olduğu not edilmiştir. Kronik lathyrisimde de aynı duraklama izlenmiştir. Lathyrisim interfibriler çapraz bağlantı için gerekli olan lizil oksidaz enziminin inhibisyonu sonucu kollajen sentezinde defekt meydana gelmesiyle karakterize olan bir hastalık olması sebebiyle, çözünebilir kollajende fazla artışa neden olduğu bildirilmiştir. GAG metabolizmasındaki değişiklik nedeniyle bağ dokusunda asit mukopolisakkaritlerde de artışa neden olduğu gösterilmiştir (Baden ve ark., 1983).

Histopatolojik bulgulara ilave olarak saptanan β -APN uygulanmasına bağlı oluşan hemorajik kemik kistlerinin mandibula ve uzun kemiklerde oluştuğu ve insanlarda görülen anevrizmal kemik kistlerine çok benzediği ileri sürülmüştür (Biesecker ve ark., 1970; Baden ve ark., 1983). Kronik lathyrisimde mandibular exostoz oluşma sıklığının üç hafta sonunda %25, altı hafta sonunda %50 civarında olduğu saptanmıştır ve bu oranın akut β -APN intoksikasyonundan daha düşük olduğu ileri sürülmüştür (Gross ve Levene, 1959; Baden ve ark., 1983).

2.8.Deneysel Lathyrismde Periodontal Ligament

Periodontal ligament dişi çene kemiğine bağlama ve fonksiyon arasında dişi destekleme işlemlerinde önemli rol oynamaktadır. Dişler, hareket ettirme eğiliminde olan çeşitli internal ve eksternal kuvvetlere maruz kalırlar (Chiba ve Ohkawa, 1980). Periodonsiyumun dişlerin kuvvete maruz kalmasına olan cevabı, deney hayvanlarında ve insanlarda kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Bien, 1966; Chiba ve Ohkawa, 1980).

Periodontal ligamentin destekleme fonksiyonu kollajen fibriller tarafından sağlanmaktadır. Olgun periodontal ligamentte kollajen fibriller farklı yapısal formlar halinde organize olmuşlardır. Sharpey fibrilleri olarak bilinen bu kollajen fibriller sement dokuya tutunurlar ve periosttan kemiğin dış lamellerine gömülürler. Esas fibrillere karşıt olarak, sekonder fibriller esas fibriller arasında yer alan oryante fibrillerdir; sinir ve kan damarlarını kuşatmaktadır. Bu fibriller sement ya da kemiğe tutunmazlar (Chiba ve Ohkawa, 1980).

Dişe intrüsv kuvvet uygulandığında, periodontal ligament temel olarak sok absorbe edici olarak görev yapar ve diş ile çene kemiği arasında bir miktar yer değiştirme oluşur. Dokuda yer değiştirme oluşabilir ya da uygulanan kuvvetin boyut, yön ve sürekliliğine bağlı olarak yeni bir dengeye ulaşır (Chiba ve Ohkawa, 1980).

Periodonsiyumun mekanik özelliklerini anlamaya yardımcı olmak amacıyla, bir dişin soketten çıkartılması için gerekli olan kuvvet miktarını ortaya çıkarmak önemlidir. Böyle bir kuvvet periodonsiyumun maksimum gerilme direncini gösterebilir ve dişin soket içinde geri dönüşümü olmayan yer değiştirmesi oluşabilir. Kollajenin çapraz bağlantı olayını inhibe eden maddeler olarak bilinen lathyrogenlerin periodonsiyumun mekanik direncine etkileri üzerine bir takım çalışmalar yapılmıştır (Chiba ve Ohkawa, 1980, Ohshima ve ark., 1989). Lathyritic hayvanların çoğunda bağ dokusu gerilme direncinde azalma olduğu saptanmıştır (Levene ve Gross, 1961; Chiba ve Ohkawa, 1980, Ohshima ve ark., 1989).

Lathyrogen uygulanmasından sonra meydana gelen gerilme direncindeki azalma ve bağ dokularının çözünebilir bölümlerindeki artış, kollajen çapraz bağlantısında meydana gelen engellenme ile açıklanmıştır (Levene ve Gross, 1961; Chiba ve Ohkawa, 1980, Ohshima ve ark., 1989). Dişi çekmek için uygulanacak kuvvetin temel olarak periodontal ligamentin kollajen fibrillerinin mekanik özelliklerine bağlı olduğu ihtimali düşünülmektedir (Chiba ve Ohkawa, 1980).

Lathyritic ajanlar deneysel olarak periodontal ligament fonksiyonunda kollajenin rolünü incelemek için kullanılmıştır. Okluzyonda tutulan rat kesicilerinin sürme hızında azalma olduğu görülmüştür, ancak kesici dişler okluzyondan çıkarıldığında yüksek hızla sürmeye devam etmişlerdir (Berkovitz ve ark., 1972). Lathyrogenlerin ayrıca diş destek mekanizmasını da etkilediği bildirildiğinden, bu fonksiyonel değişikliklerin periodontal ligament yapısını nasıl etkilediği tam olarak anlaşılamamıştır. Daha önce anlatıldığı gibi ışık mikroskobu seviyesinde okluzyonda olan lathyritic dişlerin periodontal ligamentinin bozulma ve hyalinizasyon alanları gösterdiği ve kollajen fibrillerin oryantasyonlarını kaybetmiş olduğu izlenmiştir. Ayrıca alveol kemiğinde rezorpsiyon görülmüştür. Okluzyonda olmayan lathyritic dişlerin periodontal ligamentleri normal görüldüğüne göre, bu histolojik değişikliklerin yapısal olarak zayıf olan dokulara okluzal stresin etkileri olabileceği bildirilmiştir (Shore ve ark., 1984).

Lathyrogenlerin deney hayvanlarına etkileri konusunda yapılan ve bulguları verilen çalışmalarda histopatolojik ve ultrastrüktürel değerlendirmelere yer verilmekle birlikte radyografik bulgular ve biyokimyasal parametrelerin ortak olarak kullanılmaması dikkat çekmektedir. Bu eksikliği gidermek ve modelimizi radyografik bulgulara ilave olarak, biyokimyasal açıdan da değerlendirmek amacıyla serum alkalin fosfataz aktivitesi ve dişeti dokusu interlökin-1 beta (IL-1 β) konsantrasyonu incelemelerini de çalışmanın kapsamı içerisine aldık.

2.9.Enzimler

Enzimler vücuttaki pek çok kimyasal reaksiyondan sorumlu olan ve bütün dokularda bulunan protein katalizörlerdir. Bunların bazıları plazma ya da serumda tanımlanır ve genellikle hasara uğramış veya yaralanmış hücrelerden, bazen de baskı altında kalan hasara uğramamış hücrelerden açığa çıkarlar (Henry, 1996).

Klinisyenler serum enzimleriyle yarım yüzyıldan daha fazla süredir ilgilenmişler ve özellikle karaciğer ve kemik hastalıklarının teşhisinde alkalen fosfataz seviyeleri; karsinoma ve prostat teşhisinde asit fosfataz; pankreatik hastalıkların teşhisinde de amilaz ve lipazları kullanmışlardır (Henry, 1996).

Enzim aktiviteleri ya da konsantrasyonları serumda birden çok faktör nedeniyle yükselir. Enzimlerin yükseldiği bir çok hastalık durumunda sebep genellikle artan membran permeabilitesi, ikincil olarak da hücre zedelenmesi ve nekrozudur (Henry, 1996).

Hücre içi enzimler önce kapillerlere sonra da genel sirkülasyona yayılırlar. Serumdaki enzim seviyelerinin yükselmesi, sıklıkla hücre içi sentezin artması ve daha sonra bu salgılanan enzimlerin sirkülasyona difüzyonu yoluyla olmaktadır (Henry, 1996).

Bütün enzimler protein yapıdadır. Enzimlerin protein yapıları polipeptid zincirlerden oluşur. Bu polipeptid zincirler 3 boyutlu yapılarının tanımlanmasına izin verecek şekilde spesifik aminoasit sıralanmalarından meydana gelmiştir. Bu yapı enzimin spesifitesini ve onun substratının özelliklerini yansıtır (Henry, 1996).

Enzimler bütün proteinler gibi fiziksel ve kimyasal etkenlerle oluşan denatürasyona karşı duyarlıdır. Ayrıca substrattan farklı olarak substrat olmayan maddelere de bağlanabilirler ve sonuçta aktiviteleri korunur ya da düşer. Bu moleküller aktivatör ya da inhibitör olarak bilinirler (Henry, 1996).

2.10.Enzim Aktivitesinin Belirlenmesindeki İlkeler

Enzimlerin serum içerisindeki varlıklarının tayini miktar tayininden çok aktivitelerinin tayini ilkesine dayanır. Genellikle küçük moleküller, spesifik substratlar seruma ilave edilerek enzimin etkisiyle yeni bir ürüne dönüşmesi ilkesine dayanır. Enzim konsantrasyonları üniteler olarak açıklanır ve üniteler konsantrasyondan çok aktiviteyi tanımlar. Üniteler olarak tanımlanan enzim aktivitesi genellikle ürünlerin konsantrasyonlarının herhangi birinin artmasını veya substrat konsantrasyonundaki azalmayı, ya da koenzim konsantrasyonundaki değişikliği tanımlar. Bu üç yapıdaki değişiklik hızı reaksiyonun hızını tanımlar. Serumdaki enzimlerin seviyeleri onların katalitik hızları ile tanımlanır ki bu da normal şartlarda konsantrasyon ile direkt ilişkilidir. Gerçek enzim konsantrasyonları ancak immünokimyasal metodlarla tayin edilebilir (Henry, 1996).

2.11.Spesifik Enzimler- Fosfatazlar

Daha önceleri fosfo-mono-esterazlar ya da ortofosforik ester monohidrolazlar olarak adlandırılan fosfatazların 2 esas şekli vardır: Alkalen fosfataz ve asit fosfataz. Alkalen fosfataz için optimum pH yaklaşık 9'dur (Henry, 1996).

Alkalen fosfataz vücudun hemen hemen bütün dokularında bulunmaktadır. Enzimin metabolik fonksiyonu hakkında, bağırsaktan lipid geçişinde ve kemiğin minerilizasyon işleminde görev aldığı düşünülmektedir (Burtis ve Ashwood, 1994).

Alkalen fosfataz enzimi kemik dokuda çok fazla miktarda bulunmaktadır ve bu dokuda bulunan osteoblastlar alkalen fosfatazın kaynağıdır. Serumda yüksek seviyelerde izlenen alkalen fosfataz, osteoblastik aktivitenin yani kemik oluşumunun göstergesidir. Serum alkalen fosfataz aktivitesinin ölçümü karaciğer ve kemik hastalıklarında önem kazanmaktadır. Kemik hastalıklarından en çok Paget Hastalığında (osteitis deformans) artış göstermektedir. Çünkü osteoklastların kontrolsüz aktivitesi nedeniyle, osteoblastların kemiği yeniden şekillendirmeye çalışması söz konusudur (Burtis ve Ashwood, 1994; Henry, 1996).

Serum alkalen fosfataz aktivitesi orijinal olarak Kay ve Bodansky metodu kullanılarak değerlendirilir. Bu yöntemde substrat olarak B-gliserofosfat kullanılmaktadır. Fonksiyon zamanında serbest kalan inorganik fosfatın ölçülmesiyle karakterizedir. King-Armstrong metodunda ise fenol+fosfataz enzim yoluyla fenilfosfat birleştirilir, serbest kalan fenol spektrofotometrik yöntemle ölçülür. Bu metod renksiz bir madde olan p-nitrofenilfosfatın substrat olarak kullanılmasıyla uygulanmaktadır (Burtis ve Ashwood, 1994).

Yaklaşık 25 yıldır dişeti oluğu sıvısı (DOS) alkalen fosfataz değerinin periodontal hastalık için kullanılabilir bir belirleyici olabileceği üzerinde durulmuştur. Enzimin periodontal doku ya da cep içinden lokal üretimi nedeniyle DOS'daki seviyesinin plazma ve serumdakinden daha yüksek olduğu düşünülmektedir (Binder ve ark., 1987; Armitage, 1996).

2.12.Sitokinler

Bütün fizyolojik ilişkilerde ve immün sistemde iletişim en temel görevi oluşturur. İmmün sistemin salgıladığı moleküllerden bir bölümü de sitokinlerdir. Sitokinler immün hücrelerin kendi aralarındaki ve vücudun diğer hücreleri ile olan iletişimini sağlar. İmmün yanıtın oluşabilmesi için bu moleküllerin vücudun o bölgesine gitmeleri ya da iletişimi sağlayacak kadar yaklaşmaları gerekmektedir. Araştırmacılar sitokinler ve bunlarla birlikte görev gören hücre adezyon molekülleri üzerinde gün geçtikçe daha fazla durmakta ve hastalıkların fizyopatolojisi, tanısı ve yönlendirmesi konusunda bu moleküller aracılığıyla önemli ipuçları elde etmektedir (Henry, 1996).

Sitokinler immün sistemden salgılanmış, çözünebilir protein ya da glikoprotein yapıda olan mesaj molekülleridir (Kjeldsen ve ark., 1993; Henry, 1996). Hem otokrin hem de parakrin yapıda olabilirler. Aynı zamanda fonksiyonları itibariyle hormonlara benzerler. Düşük moleküler ağırlığa sahiptirler. Monomer şekilleri 30 kDa'dan daha küçüktür (Henry, 1996).

Öncül polipeptidler vasıtasıyla oluşturulurlar. Olağanüstü güçlü enerjiye sahiptirler ve işlev gördükleri bölgede doymuş konsantrasyonda bulunurlar. Sitokinlerin çok sayıda farklı etkileri vardır, kendilerini üreten hücrelerle karmaşık ilişkilere sahiptirler. Kendilerini üretebilecek ya da baskılayabilecek etkilere sahip oldukları gibi diğer sitokin gruplarını ve sitokin reseptörlerini uyarma ve üretme özellikleri de vardır. Birbirlerine karşı sinerjik ya da antagonist etkiye sahip olabilirler. Hücreler arasında iletişim kurarken, immün ve nonimmün hücrelerin düzenlenmesine yardım ederler (Henry, 1996).

Önceleri T ve B lenfositler tarafından üretilen sitokinlere lenfokin, monosit/makrofaj tarafından sentezlenen sitokinlere monokin adı verilmekteydi. Günümüzde genişleyen fonksiyonları nedeniyle daha uygun bir terim olan sitokin olarak isimlendirilmişlerdir (Kjeldsen ve ark., 1993; Henry, 1996).

İnterlökinler, interferonlar, tümör nekrozis faktör (TNF), transforming growth faktör (TGF) gibi sitokinler immün sistemde daha çok T hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilen makromoleküllerdir. Monosit-makrofajlar immünolojik olarak uyarı görevi gören ve proenflamatuar sitokin olarak adlandırılan interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8), tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α)'yı üretirler (Henry, 1996).

Günümüzde sitokinlerin değerlendirilmesi çoğu zaman deneysel amaçlarla kısıtlı kalmakla birlikte özellikle bazı hastalıkların seyri, şiddeti açısından değerlendirilmesinde ve ayrıca iyileşme döneminin takibinde sitokin üretiminin azalması ya da durması açısından önem kazanmışlardır. Çok yakın bir gelecekte tanı amaçlı olarak da geniş olarak değerlendirileceği inancı yaygındır (Henry, 1996).

İnterlökin-1 (IL-1), interlökin-1 alfa (IL-1 α) ve interlökin-1 beta (IL-1 β)'dan oluşmaktadır. IL-1 α ve IL-1 β aminoasit seviyesinde %25 oranında benzerlik gösterir, ancak farklı genler tarafından kodlanmışlardır (Page, 1991; Kjeldsen ve ark., 1993; Henry, 1996). Diğer birçok sitokinde olduğu gibi öncül proteinler

tarafından üretilir daha sonra da uygun formlara çevrilir. IL-1 β 'yı salgılayan spesifik proteaz enzimi tanımlanmıştır (Henry, 1996).

IL-1 en çok makrofajlar tarafından üretilir ve mikrobiyal maddeler, immün kompleks ya da diğer sitokinler tarafından aktive edilir (Page, 1991). Ayrıca plateletler, fibroblastlar, keratinositler ve endotel hücreleri tarafından da sentezlenebilir (Myrillas, 1990; Page, 1991). IL-1 üretimi periodontitis gibi Gram-negatif enfeksiyonlarda özel öneme sahiptir (Page, 1991).

IL-1, TNF- α tarafından da stimule edilebilir. Ayrıca TNF- α gibi endotel hücrelerini etkileyerek, enflamasyon bölgesine nötrofil ve monositlerin atışmasını sağlamaktadır. Nötrofillerin ve monositlerden derive makrofajların birikiminin periodontal lezyonlarda aktif hastalığın habercisi olduğu düşünülmektedir (Page, 1991).

Şöyleki kemik rezorpsiyonunun potansiyel stimülatörü olan IL-1, hem kendisi direkt olarak etki gösterir hem de lokal prostaglandin sentezini artırarak görev görür. Aynı zamanda kemik oluşumunu da inhibe eder. IL-1 kendisi osteoklastlar üzerinde direkt etkiye sahip değilse de osteoblastlar yoluyla parathormon gibi etki etmektedir. Parathormon ve TNF- α ile sinerjik etki gösterir. Bunun da ötesinde osteoklast oluşumu üzerinde artırıcı etkisi olduğu bilinmektedir (Henry, 1996).

IL-1'in özellikle IL-6 ve TNF ile birlikte olduğu durumlarda doku yıkımı artar ve kronik enflamasyondan bahsedilebilir (Henry, 1996).

Çalışmamız planlanırken en tartışmalı nokta sistemik katabolizan bir madde ile elde edilecek defektlerin sadece peridonsiyumu tutan lokal defektleri temsil edip edemeyeceği konusundaki kuşkuymuzdu. Böyle bir kuşku kollajen yıkımının izlenmesinin hedeflendiği çalışmamız için belki aşırı hassasiyet olarak yorumlanabilir. Ancak bu hassasiyet gelecekte planlanan hastalık mekanizması,

yara yeri iyileşmesi ve rejenerasyon çalışmalarına öncülük edecek bir model oluşturma konusunda eleştiri alabilir endişesinden kaynaklanmıştır.

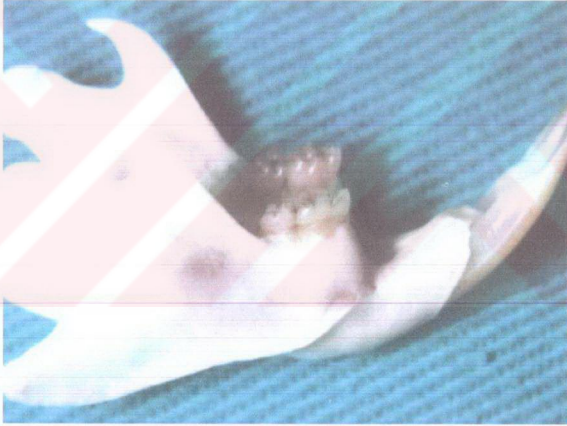
Burada önemli olan bir diğer nokta ise periodonsiyumda yıkım mekanizmasında aktif rolü üstlenen mikrobiyal çevre ile ilgilidir. Mikrobiyal çevrenin direkt, indirekt etkisi ve sonuç olarak savunma hücrelerinin bölgeye kemotaksi yoluyla davet edilmesi, sitokinler ve enzimler vasıtasıyla doku yıkımının başlaması söz konusudur. Bu nedenle çalışmamızda sağlıklı deney hayvanlarında sistemik uygulamalarla yaratılan kimyasal katabolizmanın bölgede mikrobiyal bir çevre yaratılmasına zemin hazırlayıp hazırlamayacağı veya mikrobiyal nedenlerle oluşan yıkıma benzer bir doku yıkımının oluşup oluşmayacağı yönündeki değerlendirme önem kazanmaktadır.

İleride planlanacak çalışmalarda lathritic modelde mikrobiyal yıkım ve bu yolla harekete geçen immün sisteme ait spesifik belirleyiciler, biyolojik belirleyicilerle kıyaslanarak ele alınacaktır. Ancak son yıllarda yapılan genetik araştırmalarda immün sistemin neden ötesinde sonuç olarak görülmesi yolundaki değerlendirilmeler cesaretimizi arttırmaktadır.

3.MATERYAL VE METOD

Çalışmamız Ondokuz Mayıs Üniversitesi (O.M.Ü.) Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezinden sağlanan, ağırlıkları 150-250gr arasında değişen 45 adet erkek Wistar ratta gerçekleştirildi. Ratların sistemik olarak sağlıklı, daha önce herhangi bir araştırmada kullanılmamış olmalarına özen gösterildi. Deney hayvanları çalışma öncesinde tartılarak ayrı ayrı kafeslere alındı ve beslenme şartları eşit olacak şekilde hazırlandı.

Ratların alt çenelerinde sağ ve sol molar dişler çalışma bölgesi olarak saptandı (Şekil 3).



Şekil 3. Yetişkin bir rat mandibula kemiğinde dişlerin lokalizasyonu

Rastgele bir seçimle deney hayvanları 15'er rattan oluşan 3 ayrı gruba ayrılarak deneysel çalışmaya aşağıdaki gruplandırma ve uygulamalarla başlandı.

Birinci grup: *İpek Ligatürle Oluşturulan Periodontitis Modeli:* Operasyon öncesinde ratlara intraperitoneal ketamin HCl* (0.2ml ketamin HCl/100gr vücut ağırlığı) anestezisi yapıldı. Bunu takiben operasyon sahaları antiseptik bir

solüsyonla dezenfekte edildi. Kanama kontrolünü sağlamak için bölgeye adrenalin içeren lokal anestetik madde** uygulandı. Anestezi sonrası komissurektomi yapılarak, masseter ve buccinator kaslar ekarte edildi ve bu sayede rat ağız ortamında çalışma sahası yaratıldı. Mandibular molar dişler bölgesinde 11 ve 15 numaralı bistürilerle intrasulkuler ve vertikal insizyonlar yapılarak flep kaldırıldı (Şekil 4a). Bölgede 800 devir/dakika'da çalışan fizyodispensır yardımıyla steril çelik frezlerle vestibüler alveol kemiğinde 0.5mm genişliğinde dehisens tarzında defektler elde edildi (Şekil 4b). 1.molar dişin boyun bölgesine, mine-sement sınırını takip edecek şekilde 3.0 ipek suture*** geçirilerek vestibülde düğümlendi (Şekil 4c). Bu işlemi takiben flepler yerlerine yerleştirilerek 3.0 katgüt suture**** ile suture edildi. Operasyon sırasında periostun korunmasına ve minimum doku kaybı oluşmasına özen gösterildi. Tüm denekler 40 gün süreli izleme periyoduna alındı. Deney periyodunda ratlar standart miktarda bisküvi ile beslendi.

İkinci grup: Deneysel Lathyrisim Modeli: Bu modeli oluşturmak amacıyla kullanılan beta- aminopropionitrile (β -APN)***** distile su içerisinde çözüldü ve 5mg β -APN/0.4ml hacim/100gr vücut ağırlığı dozunda her gün taze olarak hazırlanarak 40 gün boyunca subkütan olarak enjekte edildi. Bu gruptaki deney hayvanları da ligatür grubuyla aynı standart diyetle beslendi.

Üçüncü grup: Kontrol Grubu: Bu gruptaki ratlara herhangi bir işlem uygulanmadı. Deney gruplarını oluşturan ratlarla aynı şekilde beslendi.

Deney periyodunun 40. gününde ağırlıkları ölçülen ratlardan, hafif eter anestezisi altında "cardiac puncture" metoduyla 2cc kan örnekleri alındı ve denekler dekapitasyon metodu ile sakrifiye edildi. Bu işlemi takiben sol ve sağ mandibularlar çıkarıldı, mandibular kemik etrafındaki yumuşak dokular uzaklaştırıldı.

*Ketalar, E. Warner Lambert

**Ultracain D-S Forte, Hoechst Marion Roussel

***Steril ipek suture, Doğsan

****Krome katgüt, Boz

***** β -APN, Sigma katolok numarası: A-3134



Şekil 4a. Komissurektomi işlemini takiben flep kaldırılmış olan mandibular molar bölge

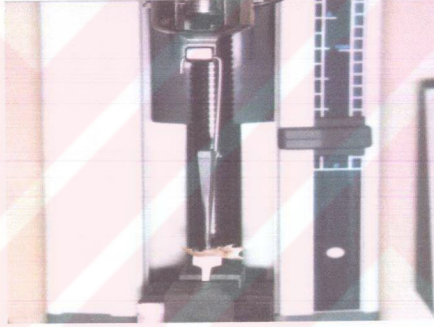


Şekil 4b. Elde edilen dehisens tarzı defeklerin görüntüsü

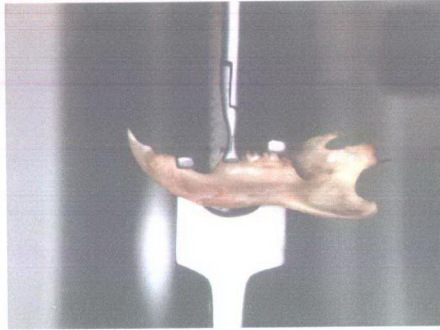


Şekil 4c. 3.0 sütünün mine-sement sınırına yerleştirilmesinden sonraki görüntüsü

Yukarıda açıklandığı şekilde çıkarılan sağ mandibula kemikleri 4°C salin solüsyonuna koyuldu. Trophy marka, 70KvP ve 8mA'lık dental röntgen cihazı ile 0.40sn sürede uzun kon kullanılarak disseke edilen mandibula kemiklerinden radyograflar alındı. Radyograflar standart olarak hazırlanan günlük otomatik banyo solüsyonlarında çözülerek değerlendirildi. Bu işlemden sonra, 1.molar dişler 2 saat içerisinde çekme testine tabi tutuldu (Chiba ve Ohkawa, 1980). Bu işlemde Lloyd marka bilgisayar destekli cihaz kullanıldı. Mandibulayı çekme testi cihazına asabilmek amacıyla özel adaptör yapıldı (Şekil 5a,b). İşlem sırasında mandibula asıldı ve dakikada 5mm hızla 1.molar diş soketten çıkıncaya kadar otomatik olarak kuvvet uygulandı. Uygulanan kuvvet Newton (N) olarak, her örnek için ayrı ayrı kaydedildi.



Şekil 5a. Lloyd marka bilgisayar destekli çekme testi cihazına yapılmış adaptör ile asılmış mandibular kemik



Şekil 5b. Çekme testi için asılmış olan sağ mandibular kemiğin görüntüsü

Dekapitasyon öncesi elde edilen kan örnekleri 1000 devir/dakika'da 10 dakika santrifuj edilerek serumları ayrıldı ve serum alkalen fosfataz aktivitesi tayini işlemine kadar -70°C 'de saklandı. Serum alkalen fosfataz aktivite tayininde Alman Biyokimya Birliğinin 1972 yılında tanımladığı optimum standart metod kullanıldı. Kalorimetrik analiz standart metod gereğince yapıldı.

Alkalen fosfataz aktivitesi Roche/Hitachi 917 ve MODULAR Sistem kullanılarak her örnek için otomatik olarak hesaplandı.

Mandibular molar dişlerin vestibül bölgesinden alınan, serbest ve yapışık dişetini içerecek şekilde yaklaşık boyutu 3x3mm olan dişeti örnekleri hassas terazide (Sartorius) tartıldı. Serum fizyolojik içeren ortama alınarak sıvı azot tankına koyuldu ve deneysel çalışmalar için Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarına getirildi. Sıvı azottan çıkarılan doku örnekleri homojenizasyon için pH'ı 7.0 olan soğuk (4°C) fosfat tampon (PBS) içerisine alındı (Doxey ve ark., 1998). Örnekler küçük parçalara bölündü ve özütleyici tüpüne alındı. Teflon-cam homojenizatör kullanılarak Potter-Elvehjem tipi Heidolph döndürücünün en yüksek hızında (max.RPM) 30 saniye süre ile homojenize edildi. Bu homojenat Sanyo-Soniprep150 ultrasonikatörde 7 ayarında 15-20 mikronda 20 saniye süre ile 30 saniye aralıklarla 3 kez sonikasyon yapıldı. Tüm çalışmalar $0-4^{\circ}\text{C}$ 'de gerçekleştirildi (Savant ve ark., 1964). Elde edilen süspansiyon ELISA ile değerlendirme işlemine kadar -70°C 'de saklandı. ELISA testinden 8 saat önce örnekler 4°C 'ye alındı ve işlem anında oda ısısında ($20-25^{\circ}\text{C}$) olması sağlandı. Değerlendirmede örneklerden $50\mu\text{l}$ kullanıldı. Testte ayrıca 6 adet standart kullanıldı. Dişeti IL-1 β konsantrasyonu her örnek için Endogen ELISA kiti kullanılarak 450-550nm'de standart ELISA cihazında tayin edildi.

Işık mikroskop incelemeleri için yaklaşık boyutu 2x1.5cm olan sol mandibula kemiklerinin molar diş bölgesini içeren blok, periodonsiyumu ile birlikte pH'ı 7.4 olan %10'luk formaline alındı. Dokular %10'luk ethylenediaminetetracetic acid (EDTA) içinde 4 haftada dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon işlemi takiben dokular akan suyun altında 24 saat boyunca

yıkandı. Bukkolingual yönde ikiye kesilerek elde edilen örnekler klasik yöntemlerle parafine gömüldü. Mikrotom ile 5µm'luk kesitler hazırlanarak Hematoxylin-eosin ile boyandı.

Işık mikroskopunda x25 ve x100 büyütmelerde iltihabi infiltrasyon, alveol kemiği yıkımı, periodontal ligament durumu değerlendirildi.

Elektron mikroskop incelemesi için ayrılan ve yaklaşık boyutu 1x1.5 olan molar diş bölgesi periodonsiyumu ile birlikte pH'ı 7.4 olan 0.1M fosfat tampon içerisindeki %2.5'luk gluteraldehit solüsyonuna alındı. Bu dokular pH'ı 7.3 olan fosfat tampon içerisindeki %5'lik EDTA, %2.5 gluteraldehit, %6.5 sukroz çözeltisinde 8 ayda dekalsifiye edildi (Shore ve ark., 1984). Dekalsifikasyon işleminin tamamlanmasını takiben dokular elektronmikroskop doku takibi işlemlerinden geçirildi.

Bu işlemleri takiben Transmission Elektron Mikroskop (TEM) incelemesi için bölgeyi seçmek amacıyla hazırlanan yarı ince kesitler (1µm) toluidine blue ile boyandı. Işık mikroskobu yardımıyla bu kesitlerde seçilen ve diş-dişeti bileşimi, periodontal ligament, alveol kemiğini de içine alan bölümden 200meç'lik gridlere ince kesitler alındı. Fotoğraflar Zeiss EM 900 elektron mikroskopta çekildi.

Ultrastrüktürel olarak; aktiviteleri açısından fibroblastlar, iltihabi hücreler ve kollajen yapı değerlendirildi.

Elde edilen verilerin istatistik incelemeleri; Paired-T-Testi, Tek yönlü varyans analizi (One way ANOVA), Post Hoc Tukey Testi ve Fisher ki-kare testi kullanılarak gerçekleştirildi.

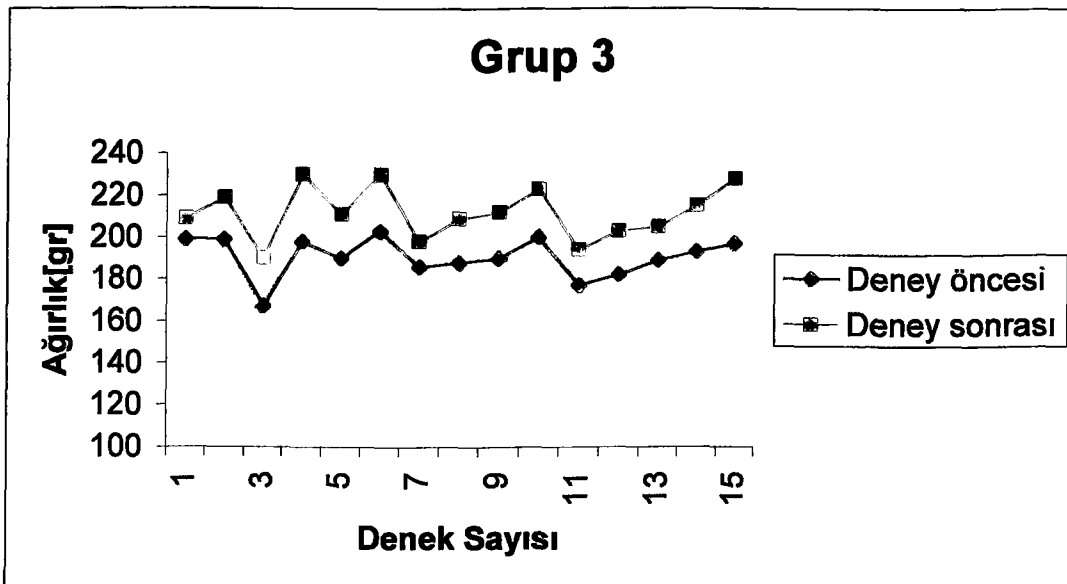
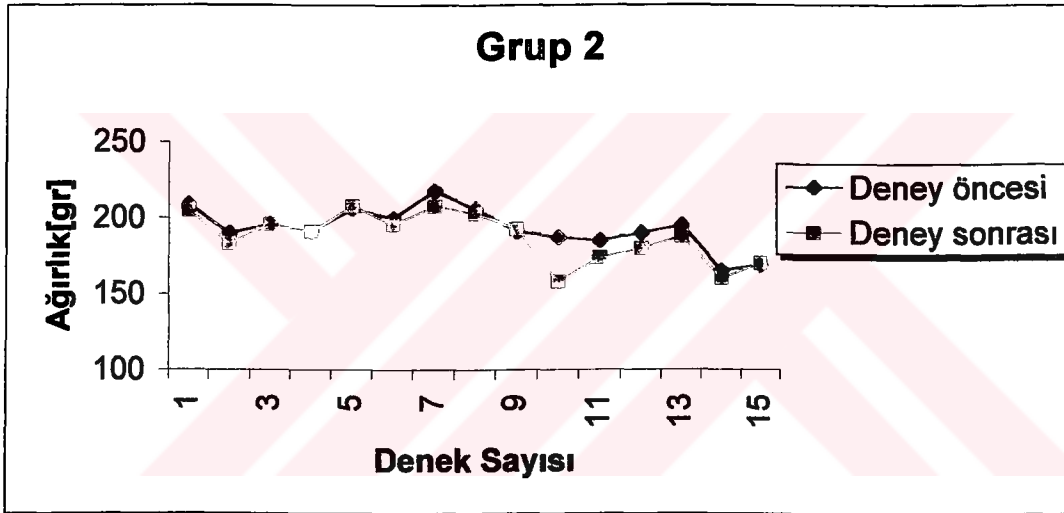
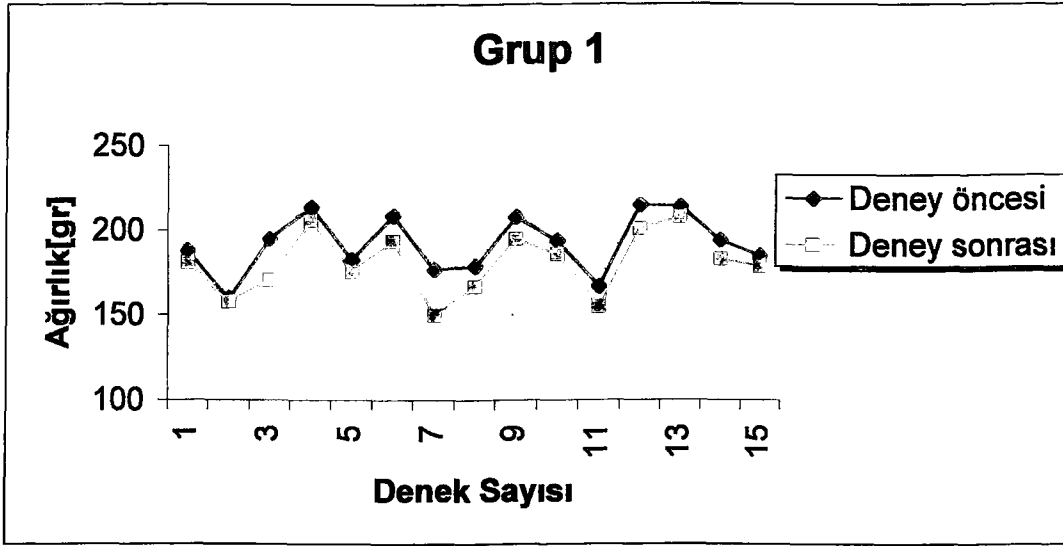
4.BULGULAR

Deney hayvanlarının vücut ağırlıkları çalışma öncesinde ve deney periyodunun son günü olan 40.günde ölçülerek kaydedildi. Birinci deney grubu olan ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis grubunda deney öncesi ortalama ağırlıklar $192,13 \pm 17,42$ gr iken, deney sonunda $180,67 \pm 18,20$ gr olarak belirlendi. İkinci deney grubu olan lathyrific grupta deney öncesi ortalama ağırlıkların $193,20 \pm 14,06$ gr, deney sonunda $187,53 \pm 16,40$ gr olduğu izlendi. Üçüncü grup olan kontrol grubunda deney öncesi ortalama ağırlıklar $190,53 \pm 9,75$ gr, deney periyodu bitiminde $211,73 \pm 12,63$ gr olarak saptandı (Tablo 1). Paired-T Testi uygulanarak yapılan istatistik sonucu her üç grupta da deney başlangıcı ve sonundaki ağırlıklar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edildi ($p < 0,05$). Deney periyodunda kontrol grubu vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlenirken, her iki deney grubunda azalma olduğu görüldü (Grafik 1).

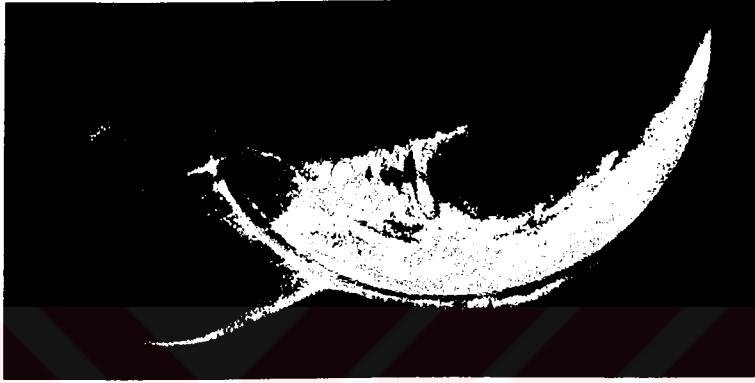
Tablo 1.Deney hayvanlarının deney öncesi ve sonundaki ağırlıkları (gr)

	Grup1 Ligatür		Grup2 Lathyrific		Grup3 Kontrol	
	Deney öncesi	Deney sonrası	Deney öncesi	Deney sonrası	Deney öncesi	Deney sonrası
1	188	181	209	205	199	209
2	160	158	190	183	199	219
3	195	171	196	196	167	190
4	214	206	191	191	198	230
5	183	176	206	208	190	211
6	209	194	200	196	203	230
7	177	150	218	208	186	198
8	179	167	206	203	188	209
9	208	195	191	193	190	212
10	194	186	187	158	200	223
11	167	155	185	174	177	194
12	215	201	190	180	182	203
13	214	208	195	188	189	205
14	194	183	165	160	193	215
15	185	179	169	170	197	228
Mean	192,13	180,67	193,20	187,53	190,53	211,73
Sd:	17,42	18,20	14,06	16,40	9,75	12,63
p<	0,001		0,05		0,001	

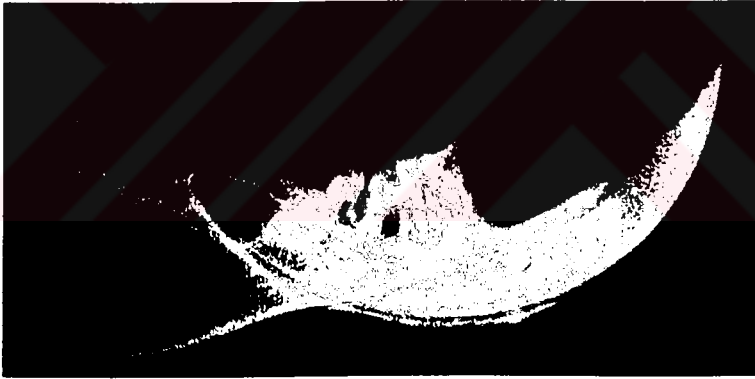
Grafik 1. Deney hayvanların vücut ağırlıklarının deney öncesi ve sonrası dağılımı



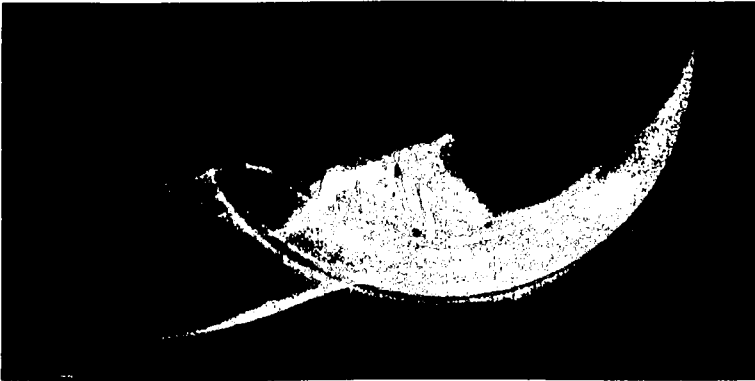
Dekapitasyonu takiben çıkarılan ve 4°C'de salin solüsyonuna alınan mandibula kemiklerinden Trophy marka, 70KvP ve 8mA'lık dental röntgen cihazıyla alınan radyograflarda molar dişler bölgesinde yapılan değerlendirmede; ligatürle oluşturulan periodontitis ve deneysel lathyrisim modelinde, kontrol grubuyla kıyasladığımızda alveol kemiği rezorpsiyonu olduğunu izledik. Kontrol grubuna ait radyograflarda lamina duranın devamlılığı gözlenirken, deney gruplarında bu yapının bozulduğu görüldü (Şekil 6a,b,c).



Şekil 6a. Ligatürle oluşturulan periodontitis grubuna ait bir radyograf



Şekil 6b. Lathyritic gruba ait bir radyograf



Şekil 6c. Kontrol grubuna ait bir radyograf

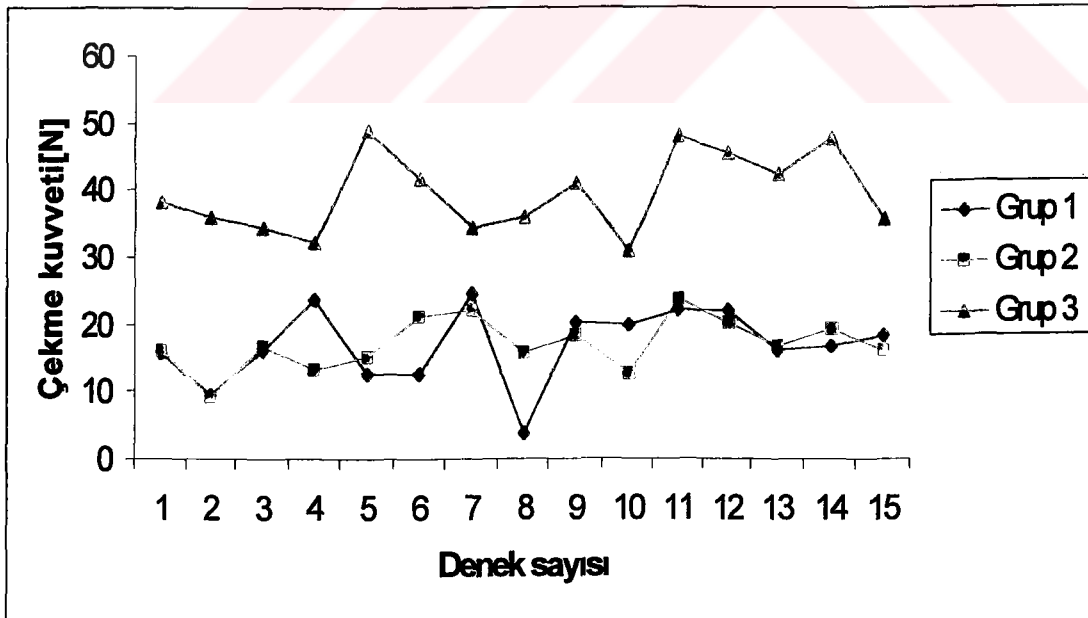
Radyograf alma işlemini takiben Lloyd marka bilgisayar destekli cihazla yapılan 1.molar dişleri çekme testi sonucunda; kontrol grubunda çekme kuvveti olarak 30,92N ile 48,83N arasında değerler saptandı. Kontrol grubuna ait ortalama çekme kuvveti $39,56 \pm 5,93$ N olarak belirlendi.

Ligatür grubundaki çekme kuvveti miktarları 3,66N ve 24,74N arasında iken ortalama değer $16,95 \pm 5,66$ N olarak hesaplandı. Lathyritic grupta en düşük kuvvet 9,168N, en yüksek kuvvet 23,60N iken, ortalama kuvvet $17,09 \pm 3,83$ N olarak tespit edildi (Tablo 2, Grafik 2).

Çekme testi için tek yönlü varyans analizinin (One way ANOVA) uygulanmasıyla gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ve bunu takiben Post Hoc Tukey Testi ile gruplar arası karşılaştırmalar uygulandı. Bu test sonucuna göre ligatür grubu ve lathyritic grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken ($p > 0,05$), ligatür ve kontrol grubu; ayrıca lathyritic ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ($p < 0,001$).

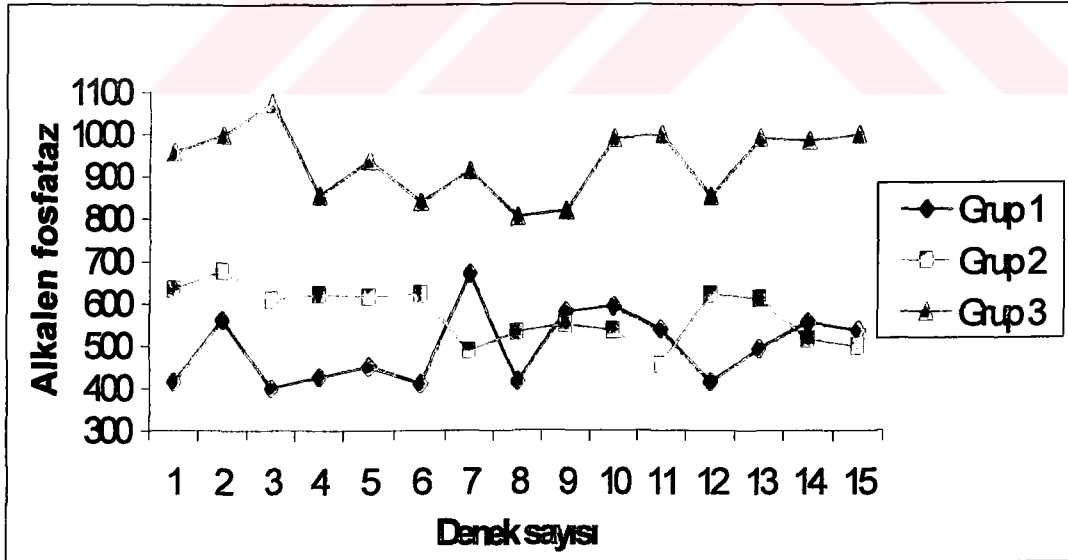
Tablo 2. Mandibular 1.molar dişi çekmek için uygulanan çekme kuvveti değerleri (N)

	Grup1 (Ligatür)	Grup2 (Lathyratic)	Grup3 (Kontrol)
1	15,80	16,19	38,09
2	9,558	9,168	36,13
3	16,19	16,68	34,51
4	23,60	13,26	32,23
5	12,58	15,21	48,83
6	12,61	21,07	41,67
7	24,74	22,14	34,51
8	3,662	15,80	36,13
9	20,18	18,31	41,02
10	19,80	12,58	30,92
11	21,97	23,60	48,01
12	22,14	20,34	45,57
13	16,21	16,68	42,32
14	16,80	19,20	47,61
15	18,34	16,14	35,81
Mean	16,95	17,09	39,56
Sd:	5,66	3,83	5,93

Grafik 2. Mandibular 1.molar dişlere uygulanan çekme kuvvetlerinin dağılımı

Tablo 3. Serum alkalen fosfataz değerleri (U/L)

	Grup1 (Ligatür)	Grup2 (Lathyritic)	Grup3 (Kontrol)
1	415	633	957
2	561	676	998
3	400	609	1074
4	428	623	856
5	451	616	938
6	411	622	840
7	671	489	913
8	417	532	805
9	580	550	818
10	593	536	990
11	540	455	998
12	415	620	854
13	493	612	992
14	556	515	983
15	536	498	998
Mean	497,80	572,40	934,27
Sd:	84,88	65,21	81,59

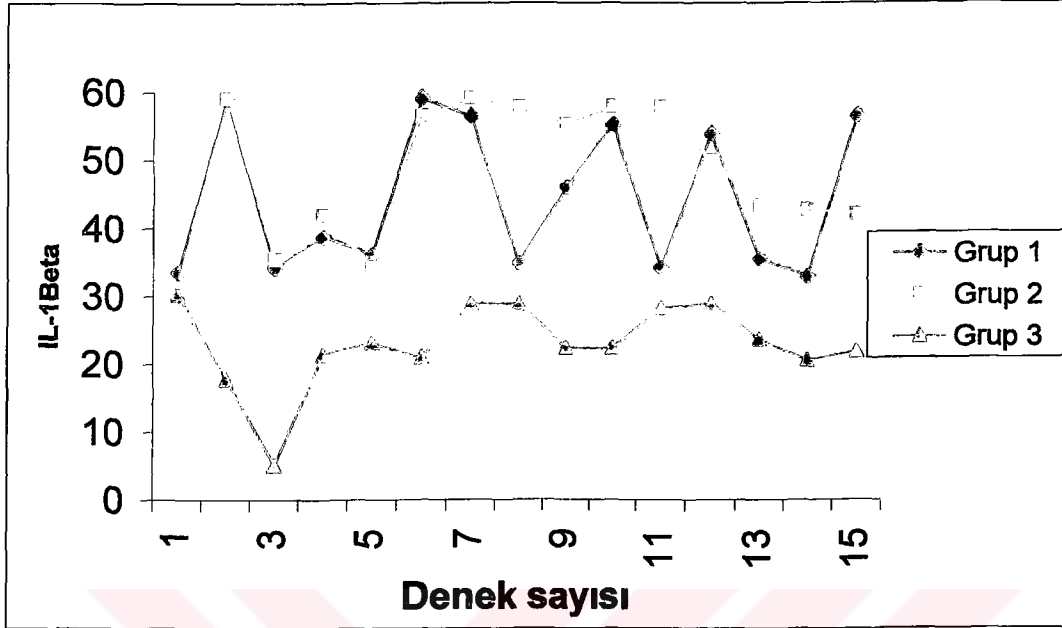
Grafik 3. Serum alkalen fosfataz değerleri dağılımı

Alkalen fosfataz için tek yönlü varyans analizinin (One way ANOVA) uygulanmasıyla gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlenerek Post Hoc Tukey Testi ile gruplar arası karşılaştırmalar yapıldı. Bu test sonucunda ligatür ve kontrol ($p<0,05$), lathyritic ve kontrol ($p<0,001$), ligatür ve lathyritic ($p<0,001$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edildi.

Elde edilen bu bulgu, deney gruplarındaki serum alkalen fosfataz aktivitesinin kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde azaldığını göstermektedir ($p<0,001$). Buna ilave olarak ligatürle elde edilen deneysel periodontitis grubundaki azalma oranının lathyritic gruba oranla anlamlı şekilde daha fazla olduğu da belirlenmiştir ($p<0,05$).

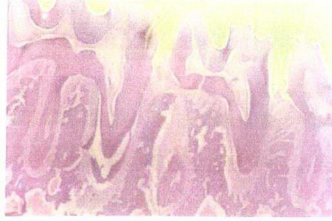
Deney hayvanlarının mandibular molar bölgesinden alınan ve homojenize edilerek süspansiyon haline getirilen dişeti örneklerinde ELISA metoduyla dişeti dokusu IL-1 β konsantrasyonu değerlendirildi. Birinci grup olan ligatür grubunda en düşük ve en yüksek değer sırasıyla 32,88pg/ml ve 59,18pg/ml iken ortalama değer $44,45 \pm 10,93$ pg/ml olarak hesaplandı. İkinci deney grubu olan lathyritic grupta en düşük IL-1 β değeri 30,25pg/ml, en yüksek değer 59,18pg/ml olarak saptanırken, ortalama değer $48,27 \pm 10,18$ pg/ml olduğu tespit edildi. Kontrol grubunda ise en düşük ve en yüksek değer 5,16pg/ml, 30,25pg/ml; ortalama IL-1 β konsantrasyonu $22,99 \pm 6,25$ pg/ml olarak belirlendi (Tablo 4, Grafik 4).

Diğer parametrelerde de uygulandığı gibi tek yönlü varyans analiziyle (One way ANOVA) gruplar arası fark olduğu saptanarak, Post Hoc Tukey Testi ile gruplar arası karşılaştırmalar uygulandı. Bu test sonucuna göre ligatür ve kontrol grubu, lathyritic ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark kaydedilirken ($p<0,001$); ligatür ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$) belirlendi. Bu sonuçlar ligatürle oluşturulan periodontitis grubu ve lathyritic grupta dişeti IL-1 β konsantrasyonunda, kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı artış olduğunu göstermektedir.

Grafik 4. Dişeti IL-1 β değerleri dağılımı**Tablo 4.** Dişeti IL-1 β değerleri (pg/ml)

	Grup1 (Ligatür)	Grup2 (Lathyratic)	Grup3 (Kontrol)
1	33,54	30,25	30,25
2	59,18	59,18	17,75
3	34,19	35,51	5,16
4	38,80	42,09	21,48
5	36,17	34,19	23,23
6	59,18	56,55	21,04
7	56,55	59,18	28,94
8	34,85	57,87	28,93
9	46,04	55,24	22,36
10	55,24	57,87	22,35
11	34,19	57,87	28,27
12	53,92	49,97	28,93
13	35,51	43,41	23,67
14	32,88	42,75	20,60
15	56,55	42,09	21,92
Mean	44,45	48,27	22,99
Sd:	10,93	10,18	6,25

Hematoxylin-eosin ile boyanan 5µm'luk kesitlerde ışık mikroskopunda yapılan incelemelerde, her iki deney grubunda, kontrol grubundan farklı olarak, iltihabi hücre infiltrasyonu, alveol kemiği rezorpsiyonu ve periodontal ligamette organizasyon bozukluğu olduğu saptandı (Şekil 7a,b,c,d; 8a,b,c).



Şekil 7a. Kontrol grubuna ait bir preparatta sağlıklı molar dişlerin periodonsiyumu (H&E, x25)



Şekil 7b. Ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis grubuna ait periodonsiyum (H&E, x25)



Şekil 7c. Lathyritic gruba ait periodonsiyum (H&E, x25)



Şekil 7d. Lathyritic gruba ait periodonsiyum (H&E, x25)



Şekil 8a. Kontrol grubuna ait sağlıklı periodontal ligament alanı (H&E, x100)



Şekil 8b. Ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis grubuna ait periodontal ligament alanı (H&E, x100)



Şekil 8c. Lathyritic gruba ait periodontal ligament alanı (H&E, x100)

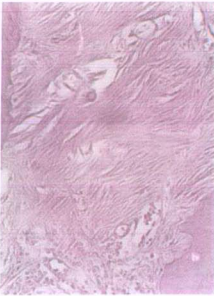
Birinci deney grubu olan ligatürle oluşturulan periodontitis grubunda deney hayvanlarının 4 tanesinde şiddetli, geriye kalan 11 tanesinde ise orta şiddette periodontal enfeksiyon olduğu belirlendi. Bu grupta 5 adet deney hayvanında enfeksiyonunun ve alveol kemiği rezorpsiyonunun apekse kadar devam ettiği ve 10 adet deney hayvanında kök boyunca yerleşim gösterdiği saptandı.

İkinci deney grubu olan lathyritic grupta deney hayvanlarının 4 tanesinde şiddetli, geriye kalan 10 tanesinde ise orta şiddette periodontal enfeksiyon olduğu gözlemlendi. Bu grupta 4 adet deney hayvanında enfeksiyonun ve alveol kemiği rezorpsiyonunun apekse kadar ilerlediği ve 11 adet deney hayvanında kök boyunca yerleşim gösterdiği belirlendi.

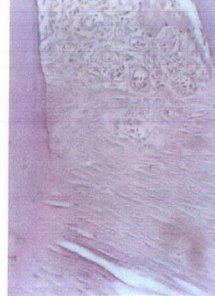
Her iki deney grubunda da alveol kemiği rezorpsiyonunun ve iltihabi hücre infiltrasyonunun bulunduğu bölgelerde periodontal ligamette organizasyon bozukluğu gözlemlendi. Vaskülaritede artış saptandı (Şekil 10a,b,c).



Şekil 9a. Kontrol grubuna ait preparatta periodontal liflerin sağlıklı organizasyonu (H&E, x100)

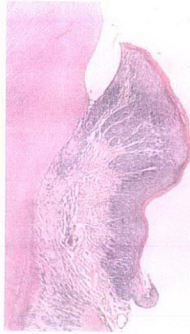


Şekil 9b. Ligatür grubundaki organizasyon bozukluğu ve vaskülaritede artış (H&E, x100)



Şekil 9c. Lathyritic gruptaki organizasyon bozukluğu ve vaskülaritede artış (H&E, x100)

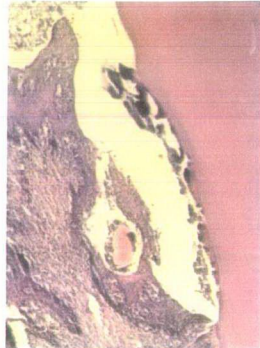
Deney gruplarında dentogingival bileşim incelendiğinde, epitelin apikale göç ettiği görüldü (Şekil 10a,b,c).



Şekil 10a. Kontrol grubuna ait bir preparatta dentogingival bileşim (H&E, x100)



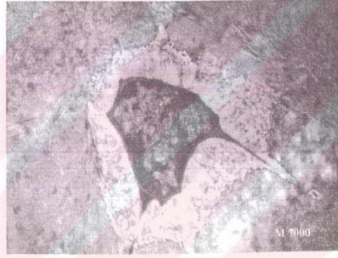
Şekil 10b. Ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis modelinde dentogingival bileşim (H&E,x100)



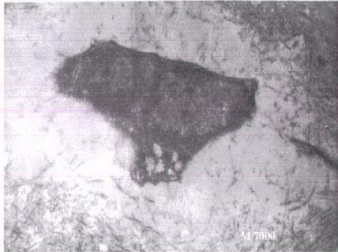
Şekil 10c. Lathyrus grubuna ait bir preparatta dentogingival bileşim (H&E, x100)

Fisher ki-kare testi ile her iki deney grubuna ait histopatolojik bulgular karşılaştırıldı ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı ($p>0,05$).

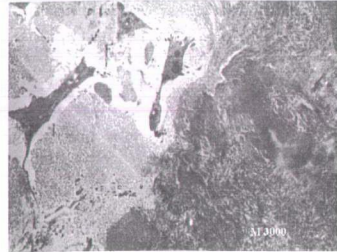
Yapılan TEM incelemesinde; kontrol grubuna ait örneklerde, fibroblastların sağlıklı olduğunu tanımlayan, ince sitoplazmik uzantılara ve heterokromatik çekirdek yapısına rastlandı (Şekil 11a). Birinci deney grubu olan ligatürle oluşturulan periodontitis grubunda, fibroblastların inaktif yapıda olduğu ve bu fibroblastlar çevresinde hemen hemen hiç kollajen lif yapımı olmadığı görüldü (Şekil 11b). İkinci deney grubu olan lathyritic grupta, fibroblastların aktivasyonun azaldığı ve buna bağlı olarak kollajen lif sentezinin azaldığı görüldü (Şekil 11c).



Şekil 11a. Kontrol grubunda sağlıklı fibroblast yapısı ve ECM’te izlenen yoğun kollajen lifler



Şekil 11b. Ligatür grubuna ait örnekte izlenen inaktif fibroblast yapısı

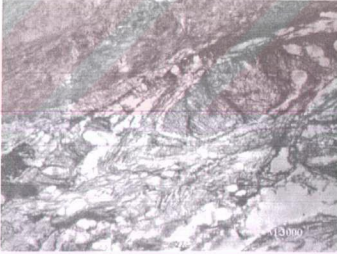


Şekil 11c. Lathyritic grupta izlenen fibroblast aktivasyonunun azalması ve düzensiz kollajen lifler

Kontrol grubunda ekstrasellüler matrikste yoğun, düzenli dağılım gösteren kollajen lif kümelerinin mevcut olduğu görüldü. Aynı zamanda enine ve boyuna geçmiş sağlıklı kollajen lifler ve çapraz band yapısı izlendi. Sentez yapmakta olan aktif fibroblastlar saptandı (Şekil 12a). Ligatür grubunda ise kollajen lif organizasyonunun bozularak değişik yönlerde uzandıkları, ince yapıda oldukları ve bandlaşmadıkları belirlendi (Şekil 12b). Lathyritic grupta da kollajen yapıda bozulma olduğu saptandı (Şekil 12c).



Şekil 12a. Enine ve boyuna geçmiş sağlıklı kollajen lifler ve band yapıları



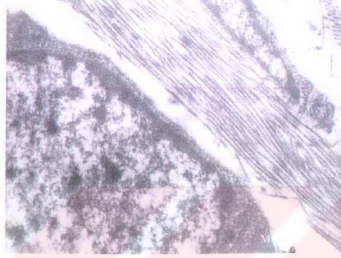
Şekil 12b. Ligatür grubunda kollajen lif dağılımındaki düzensizlik ve ince yapıda izlenen kollajen lifler



Şekil 12c. Lathyritic grupta izlenen kollajen yapıdaki düzensizlik

Kontrol grubunda yakın planda kollajen liflerin membranla örtülü veziküller tarzda fagolizozom olarak tanımlanabilen periyodik tarzdaki dağılımları izlendi (Şekil 13a).

Ligatür grubunda matris içinde kollajen liflerin enine çizgilenmesinin silik olduğu ve kemik hücrelerin de inaktif oldukları saptandı (Şekil 13b). Lathyrotic grupta matris yapıda kollajen liflerin bandlaşmadığı, fibril demetlerinin izlenmediği ve enine çizgilenmenin belirgin olmadığı belirlendi (Şekil 13c).



Şekil 13a. Kontrol grubunda izlenen kollajen band yapısı



Şekil 13b. Ligatür grubunda enine çizgilenmesi silik olan kollajen lifler ve inaktif kemik hücreleri



Şekil 13c. Lathyrotic grupta yapıdaki bozulma nedeniyle hücreler etrafında belirginliğini kaybetmiş kollajen lif demetleri

Lathyrotic grupta ayrıca yoğun iltihabi infiltrasyon ve makrofajların bulunduğu saptandı (Şekil 14).

Bu bulgular her iki deney grubunda da, kontrol grubundan farklı olarak kollajen yıkımında izlenen benzer hücre ve bağ dokusu özelliklerinin varlığını desteklemektedir.



Şekil 14. Lathyrotic grupta izlenen iltihabi hücre infiltrasyonu

5.TARTIŞMA

Dünyada sık görülen hastalıklar arasında yer alan ve diş kayıplarının en önemli nedenlerinden biri olan periodontal hastalığın insanlardaki başlangıç ve ilerleme evresini histopatolojik olarak incelemedeki imkansızlıklar bu amaç için hayvan modellerinin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır.

DeneySEL hayvan modellerinin kemik ve bağ dokusu matriks degradasyonunu izlemek ve incelemek için kullanılması, periodontal hastalığın etiopatogenezinin anlaşılmasına ışık tutacaktır. Daha önce de bildirdiği gibi mukoperiosteal flep kaldırıldıktan sonra oluşturulan dehissens akut defektlerin interproksimal alana yerleştirilen ipek sütürlar ve yumuşak dietle kronikleştirilmeye çalışılması hayvan deneySEL periodontitis modelinin elde edilmesinde kullanılan en yaygın yöntemdir.

Bu yöntemin uygulanabilmesi için, özellikle küçük deney hayvanlarında, periodontal flep operasyonuna ilaveten komissurektomi işleminin yapılması gerekliliği vardır. Bu durum takip döneminde özel dikkat gerektirmektedir. Aynı zamanda deney hayvanlarında beslenme zorluğuna da sebep olmaktadır. Buna bağlı olarak deney hayvanlarında kayıplar söz konusu olabilmektedir.

Bu dezavantajları gözönünde bulundurduğumuzda, lathyrogenlerin rat periodontal dokularında oluşturdukları defektleri radyolojik, biyokimyasal, histopatolojik ve ultrastrüktürel metodlarla kıyaslayarak alternatif bir deneySEL modeli temsil edip etmediğini saptamayı amaçladık.

Biyolojik çalışmalarda ratlar ikinci olarak en sık kullanılan hayvan grubunu oluşturmaktadır. Yaklaşık olarak hayvan çalışmalarının %21'i ratlar üzerinde yapılmaktadır. Ratların bazı özellikleri bunların tercih edilen hayvan modelleri arasına girmelerine neden olmuştur. Genetik birliktelikleri vardır. Elde edilmelerinin yanısıra bakımları da kolay ve ucuzdur. Vücut ağırlıkları nedeniyle az miktardaki kimyasallar ve düşük dozdaki farmakolojik etkenlerle biyolojik

çalışmalara zemin hazırlamalarının yanında kısa ömürleri nedeniyle, çok kısa zaman aralığında uzun döneme ait deneysel çalışmaların yapılmasına imkan tanımaktadır. Ayrıca erken dönemde bir çok parametrenin birarada değerlendirilmesine olanak tanıdığı için deney modeli olarak ratların seçildiği çalışmalar dikkat çekmektedir (Page, 1988).

Anan ve ark., (1991); Anan ve ark., (1993) ve Yamaga ve ark., (1992) kemik metabolizmasını inceledikleri çalışmalarında deneysel model olarak ratları kullanmışlardır.

Bazı hayvan türlerinde spontan olarak periodontal hastalık izlenmesine rağmen insanlardaki bütün özellikleri ile izlenebilen bir hayvan periodontitis modeli oluşturmak neredeyse olanaksızdır (Page, 1988).

Hayvan çalışmalarında, cerrahi olarak oluşturulan akut defektlerde, özellikle kontrol grubunda spontan rejenerasyon gözlenmesi çok sıklıkla karşılaşılan bir durumdur (Blumenthal, 1998; Caton, 1997). Bunun sonucu olarak modelin hassasiyeti azalmakta ve sonuçlar yanlış yorumlanabilmektedir. Çalışmamızda lathyritic grupla karşılaştırdığımız ligatürle oluşturulan periodontitis grubunda, 40 gün beklenerek kronik defektler oluşturulmaya çalışılmıştır.

Deneysel periodontal hastalık oluşturulurken çelik tellerle oluşacak travmatik etkinin, olayı doğal olarak temsil edemeyeceği, bu nedenle periodontal hastalık oluşumunu doğallaştırmak için yumuşak ligatür kullanılmasının vurgulandığı çalışmalar vardır (Schou ve ark., 1993; White ve ark., 1994; Sigurdsson ve ark., 1995).

Çalışmamızda ligatür olarak 3.0 ipek sutür kullanılmıştır. Ligatür mandibular 1.molar diş bölgesinin mine-sement sınırına yerleştirilerek, deney periyodu boyunca aynı pozisyonda sabit bırakılmıştır.

Györfi ve ark. (1994) çalışmalarında ipek sütürü, ligatür olarak kullanmışlar ve mandibular 1.molar diş bölgesine yerleştirmişlerdir.

Breivik ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada steril ipek ligatür kullanmışlar, deney boyunca oral mikroorganizmaların birikeceği periodontal cep oluşuncaya kadar sabit pozisyonda bırakıp, 7 hafta sonra ratları sakrifiye etmişlerdir.

Karring ve ark. (1984) sağlıklı periodonsiyuma sahip hayvanlarda elastik ligatürler kullanarak, yaklaşık %50 oranında bir periodontal kayıp elde edinceye kadar beklemişlerdir.

Çalışmamızda deneysel periodontitis oluşturmak amacıyla komissurektomi yapılan bölgede ve periodontal flepleri yerleştirdikten sonra ikinci bir operasyona gerek olmaması sebebiyle rezorbe olabilen katgüt sütürler kullanılmıştır.

Günümüze kadar lathyrogenlerle ilgili çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, bu maddelerin periodonsiyumda oluşturdukları değişiklikleri deneysel periodontitis olarak tanımlayan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Lathyrogenler lizil oksidaz enzimini inhibe ederek kollajenin çapraz bağlantı yapısının oluşmasını engelleyen maddeler olarak bilinmektedir (Narayanan ve ark., 1972; Tinker ve Rucker, 1985; Ohshima ve ark., 1989).

Çalışmamızda lathyritic ajan olarak kullanılan β -APN'in; düşük dozda, her gün subkütan olarak enjekte edilmesiyle lathyritic ratlar oluşturulmuştur. Periodontitisin kronik bir hastalık olması sebebiyle, akut lezyonların oluşmasını engellemek amacıyla, β -APN düşük dozda ve 40 günlük deney periyodunda uygulanmıştır.

Baden ve ark. (1983), Cho ve Garant (1984), Lees ve ark. (1994), Nollie ve ark. (1996)'da yaptıkları çalışmalarda da lathyritic ajan olarak β -APN'i

kullanmışlardır. Baden ve ark. (1983), kronik lathyrisim modeli oluşturabilmek için β -APN'i 6 haftalık zaman periyodunda uygulamışlardır.

Çalışmamızda lathyritic ajan β -APN'in uygulanması ve ligatür yerleştirilmesi ile oluşan periodontal defektleri sırasıyla; deney hayvanlarının vücut ağırlıkları, radyografi, çekme testi, serum alkalin fosfataz aktivitesi, dişeti IL-1 β konsantrasyonu, histopatolojik ve ultrastrüktürel yöntemlerle karşılaştırdık.

Kronik periodontitisin klinik ve radyolojik bulguları, özellikle deneysel çalışmalar için; dişeti enflamasyonu, kanama, cep oluşumu, dişeti çekilmesi, dişlerde mobilite ve kemik kaybı olarak özetlenebilir. Bunlardan daha çok cep oluşumu, birleşim epitelindeki konum değişikliği ve alveol kemiği kaybı değerlendirilebilen kriterler arasındadır. Yapılan incelemelerde ratlarda gingival indeks ve sondalamada kanama indeksi veren bir çalışmaya rastlamadık. Bu parametreler dışında en somut kriterin radyografik değerlendirme olacağı, bunun yanı sıra mobiliteyi temsilen dişe uygulanabilecek en büyük kuvvet dişi soketten çıkarmak için uygulanan kuvvettir görüşünden hareketle çekme testinden elde edilen sonuçlar olabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle klinik parametre olarak radyografik değerlendirme ve bilgisayar ortamında uygulanan çekme testi, periodontitis oluşumunu gösterebilmek amacıyla kullanılmıştır. Lathyrogenlerle ilgili yapılmış çalışmalarda radyografik yöntemlere yer verilmemiş olması ve deney gruplarımızda elde edilen periodontal defektleri bir de bu yöntemle gösterebilmek amacıyla radyografiler alınmıştır. Ratların ağız yapısı intraoral diş radyografisi elde etmeye imkan tanımadığından radyografik değerlendirmeler, hayvanlar dekapite edildikten sonra yapılmıştır.

Bu parametrelere ilave olarak lathyrogenler ve ligatür yardımıyla elde edilen yıkımın, kollajen matriks ve kemik doku üzerindeki etkilerini serum yoluyla da değerlendirmeyi amaçladık. Bu amaçla serum alkalin fosfataz aktivitesini tayin edebilmek için optimum standart metodu kullandık.

Shibutani ve ark. (1997), beagle köpeklerinde oluşturdukları deneysel periodontitis lezyonlarında histokimyasal yöntemleri dokuda; biyokimyasal parametreleri ise serum, DOS ve idrarda incelemişlerdir.

Araştırmamızda lathyrogenlerle ilgili çalışmalarda daha önce kullanılmamış bir parametre olan dişeti dokusu IL-1 β seviyesini saptamak için en güvenilir metodlardan biri olan ELISA yöntemi kullanılmıştır.

Genellikle sadece deneysel çalışmalarda uygulanabilen ve en önemli parametrelerden olan histopatolojik ve ultrastrüktürel metodlarla da bulgularımızı desteklemeyi düşündük.

Çalışmamızda her iki deney grubunda da deney öncesi vücut ağırlıkları ile deney sonundaki ağırlıklar arasında tespit edilen azalma, Chiba ve Ohlawa'nın (1980), lathyritic ajan olarak AAN (aminoacetonitrile)'i uyguladıkları deneysel çalışmalarında elde ettikleri bulgu ile benzerlik göstermektedir.

Ohshima ve ark. (1989) lathyritic ajan olan AAN ve β -APN'i farklı dozlarda ve farklı zaman periyodunda uyguladıkları deneysel çalışmalarında da doza bağlı olarak deney hayvanlarının vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğunu saptamışlardır.

Lathyritic grupta β -APN'in sistemik olarak uygulanması ve kollajenin çapraz bağlantısını engelleyerek hasarlı kollajen sentezine neden olması sebebiyle vücut ağırlıklarında azalmaya neden olduğu düşünülmektedir.

Deney sonunda ligatürle oluşturulan periodontitis grubumuzda vücut ağırlığında saptanan istatistiksel olarak farklı azalmanın, bu grupta bulunan komissurektomi yapılmış bölge nedeniyle oluşan beslenme zorluğuna bağlı olabileceği düşüncesindeyiz.

Çalışmamızda yapılan radyografik değerlendirmede lathyritic ve ligatürle oluşturulmuş periodontitis grubunda alveol kemiği rezorpsiyonu ve lamina dura devamlılığının kaybolduğu izlenmiştir. Yapılan literatür incelemesinde lathyritic deney hayvanı mandibulasında radyografik olarak alveol kemiği değerlendirilmesinin yapıldığı benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak Nowotny ve Sanavi (1982) yaptıkları çalışmalarında ligatürle oluşturulan periodontitis modelinde radyografik metodu alveol kemiği rezorpsiyonu oluşumunu tespit etmişlerdir.

Mandibular birinci molar dişlere çekme kuvveti uygulayarak saptadığımız periodontal ligament gerilme direnci değerinde, lathyritic grupta kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edilmiştir. Bu konuda farklı evrelerin oluşturulacağı deney düzeneği içerisinde yeni çalışmalara gereksinim olduğu düşünülmektedir. Araştırmamızda bu test sadece lathyritic gruba değil, aynı zamanda ligatürle oluşturulan periodontitis grubuna da uygulanmıştır. Her iki grupta da çekme kuvvetinde kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu saptanmıştır.

Periodonsiyumda lathyritic ajanların gerilme direncine olan etkisinin araştırıldığı çalışma ilk defa Chiba ve Ohkawa tarafından 1980 yılında yapılmış, araştırmacılar AAN'i lathyritic ajan olarak kullanarak rat mandibular molar dişlerinde periodontal ligamentteki direnç bozukluğunu çekme testi uygulayarak incelemişlerdir. Araştırmacılar lathyrogen uygulanan grupta çekme işleminin daha düşük kuvvetle oluştuğunu, yani bağ dokusu gerilme direncinin lathyritic grupta daha az olduğunu bildirmişler, bu sonucu lathyritic grupta çözünmeyen kollajen oranının azalmasına bağlamışlardır.

Benzer bir çalışmada Ohshima ve ark. (1989), ratlarda AAN ve β -APN'i ayrı ayrı, farklı dozlarda ve farklı zaman periyodunda kullanarak, mandibular molar dişlerde çekim kuvvetine karşı oluşan direnci ölçmüş, lathyritic ratlarda elde edilen çekme kuvvetinin normal ratlara oranla azaldığını ve dozaja bağlı olarak bunun değişebileceğini bildirmişlerdir.

Uyguladığımız çekme kuvvetindeki bu azalmanın sadece peridontal ligament yapısındaki bozulmaya bağlı olmadığı, aynı zamanda radyograflarda izlenen alveol kemiği desteği kaybı nedeniyle de oluşabileceği düşüncesindeyiz.

Diş mobilitesi aslında destek kaybı kadar periodonsiyumdaki damarsal ve sıvı elemanlarla ilgilidir (Wills ve ark., 1976). Dişe uyguladığımız ekstrüviz kuvvet, fizyolojik durumda dişlerin karşıladığı kuvvete benzememesine rağmen, elde edilen sonucun yüksek ekstrüviz kuvvete karşı periodontal ligamentin bozulma noktası hakkında aydınlatıcı bir bilgi niteliğinde olduğu şeklinde değerlendirilebilir.

Çalışmamızın temel amaçlarından biri, kollajen yıkımında ortaya çıkan moleküler belirleyicileri inceleyebilmek ve bunu kontrol grubuyla karşılaştırmaktır. Kemik oluşumunda esas rolü üstlenen kollajen sentezi, yığılını ve bu biyolojik aktivasyon içerisinde oluşan kimyasal değişiklikler vücut sıvıları içerisinde değerlendirilebilmektedir, özellikle yapım ve yıkımda rol alan enzimler bu parametrelerin başında gelmektedir (Henry, 1996).

Kemik yapım ve yıkımında en temel enzimler asit ve alkalin fosfatazlardır. Alkalin fosfataz, fosfat esterlerini yıkarak vücuttaki matriks çözünürlüğüne çok önemli katkıda bulunur. Kemik dokusunda osteoblastlar tarafından üretilir, pirofosfatları yıkıma uğratar ve kemik minerilizasyonunda aktif görev alır. Total alkalin fosfataz aktif kemik deviniminin önemli bir bulgusudur (Henry, 1996).

Çalışmamızda yapılan serum alkalin fosfataz aktivitesi incelemelerinde, deney gruplarında kontrol grubuna oranla saptanan istatistiksel olarak anlamlı azalma osteoblastik aktivitedeki azalmayı göstermektedir. Kemik metabolizması ile ilişkili olan bu enzim, kollajen ve kemik yıkımı ile karakterize olan deneysel lathyrisim modelimizde ve yine alveol kemiği rezorpsiyonunun izlendiği ligatürle oluşturulan periodontitis modelinde azalmış olmakla birlikte, ligatür grubundaki azalma miktarının lathyritic gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla olduğu saptanmıştır.

Kontrol grubuna oranla, her iki deney grubunda saptadığımız serum alkalen fosfataz aktivitesindeki azalma, 40 günlük deney periyodunda ratların hala yıkım aşamasında olduğunu ve başlangıç iyileşme aşamasının, matriksin çökelmeye başladığı dönemin henüz başlamadığını göstermektedir.

Kemik devinimi ile ilgili yapılan çalışmalar genellikle osteoporoz ile ilgili yapılan çalışma olarak dikkat çekmektedir (Seibel MJ ve Woitge, 1999; Delmas 1993). Bu çalışmaların hemen hemen hepsinde kullanılan parametreler serum ve kemiğe spesifik alkalen fosfataz ve asit fosfataz düzeyleridir (Delmas, 1993; Christenson RH, 1997; Blumshon ve ark., 1994).

Lathyritic ratların kemik metabolizma çalışmalarında kullanılmasının yaygın bir metod olarak değerlendirilmemesi şaşırtıcıdır. Ancak yine de az sayıda çalışmada lathyritic ratlar kullanılmıştır. Urist ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada lathyritic ratlarda osteoindüksiyonu ve heterotropik kemik oluşumunu incelemişler, kemik devinimini; total kalsiyum ve alkalen fosfataz seviyelerine bakarak değerlendirmişlerdir. Lathyrismde osteoindüktif aktivitenin düşük olduğunu saptamışlardır.

Anan ve ark.(1991) yaptıkları kemik remodelasyonu çalışmasında, kemik oluşumu ve rezorpsiyonunun aynı anda izlenebilen biyolojik olaylar olduğunu bildirmişlerdir.

Kemm'in (1975) ratlarda yaptığı çalışmada, lathyritic ajan olarak kullandığı AAN'in plazma kalsiyum miktarında azalma ve plazma alkalen fosfataz miktarında yükselmeye yol açtığını bildirilmiştir. Buna ilave olarak lathyrogenlerin alkalen fosfataz aktivitesi üzerine etkisi hakkında görüş birliği olmadığını; düşük, yüksek veya aynı seviyede kaldığını bildiren çalışmalar olduğunu rapor etmiştir.

Literatürdeki farklı sonuçların deney düzeneği, model seçimi ve metod farklılıklarından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Bulgularımızın daha fazla anlam kazanabilmesi için, gözlemlerin farklı yöntemlerle ve daha uzun deney

periyodunda erken ve geç dönemlerde tekrarlanacağı yeni çalışmalara gereksinim vardır.

Son yıllarda lokal yıkım daha çok DOS'da yaygın biçimde takip edilmektedir (Binder ve ark., 1987; Insoft ve ark., 1996). Binder ve ark. (1987), tedavi edilmemiş erişkin periodontitisli bireylerde yaptıkları çalışmada DOS ve plazma alkalin fosfataz enzim aktivitesini değerlendirmişler ve bunu periodontal hastalığın ilerlemesi ile korele etmişlerdir. İlerleyen lezyonlarda DOS alkalin fosfataz aktivitesinde yükselme olduğunu saptamışlardır. Ayrıca DOS'daki ortalama alkalin fosfataz aktivitesinin plazmadan 20 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Sıvı dinamiği henüz ortaya konmamış ve DOS toplaması zor olan rat modelinde bu parametreyi incelemeyi düşünmedik; lokal olarak bağ dokusu, periodontal ligament ve alveol kemiği ünitesi içerisinde sınırlı kaldık. Bu dokudaki değişikliklerin ayrıca seruma yansıyan özelliklerini de inceleyerek lokal ve sistemik konak doku cevabının benzerliğini ya da farklılığını ortaya koymayı hedefledik.

Savunma sisteminde iltihabi cevabın ve kollajen doku matris devriminin hücreler tarafından yönlendirilmesini sağlayan kimyasal iletişim molekülleri bilindiği üzere sitokinlerdir. Kollajen dokunun devrimi ile ilgili yapılan az sayıda çalışma özellikle son yıllarda dikkat çekmektedir.

Genel olarak sitokin aktiviteleri, salgılanan hücre ürünleri için fonksiyonel etkileri belirlemek amacıyla değerlendirilir. Ancak bu moleküllerin özellikle kompleks biyolojik sıvılarda değerlendirilmesi non-spesifik olarak kalabilmektedir, çünkü bu moleküllerin yükselmesi sadece kendilerinden kaynaklı olmayıp tanımlanamamış molekül içeriklerinden de kaynaklanıyor olabilir. Günümüzde biyolojik sıvılar içerisindeki çözünebilir reseptörleri bağlayacak spesifitesi ve tekrarlanabilirliği yüksek deneyler yapılabilir durumdadır. Laboratuarlarda enzymlerle linked immunosorbant assay (ELISA) yöntemleri, radyometrik analizler ve chemiluminescence yöntemler uygulanabilmektedir (Henry, 1996).

Sitokinlerle ilgili DOS (Rasmussen ve ark., 2000), hücre kültürü (Takada ve ark., 1991; Takahashi ve ark., 1994; Dongari-Bagtzoglou ve Ebersole, 1996; Iacopino ve ark., 1997; Myrillas ve ark., 1999), dişeti dokusu (Stashenko ve ark., 1991; Takahashi ve ark., 1994; Chen ve ark., 1997; Iacopino ve ark., 1997) ve serumda (Chen ve ark., 1997; Ebersole ve ark., 1999) yapılan çalışmalar mevcuttur.

Periodontal hastalıkların serumda belirleyiciler oluşturması, özellikle sistemik hastalıklarla periodontal hastalıklar arasındaki ilişkinin araştırıldığı ya da periodontal hastalığın sistemik sağlığa olan etkisinin incelendiği çalışmaların konusunu oluşturmaktadır. Günümüzde periodontal hastalık daha çok lokal belirleyiciler ile irdelenmektedir. Çalışmamızda lokal inceleme yapabilmek amacıyla sitokinleri dişeti dokusunda değerlendirdik.

Ratların dişeti dokusunda ELISA metoduyla IL-1 β seviyesinin değerlendirildiği çalışmamızda, deney gruplarında kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı artış olduğunu saptadık. Araştırmamız, deneysel lathyrismde sitokin incelemesi yapılan ilk çalışma olduğu için karşılaştırma imkanımız olmamıştır.

Chen ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada IL-1 β ve IL-6 seviyelerini dişeti dokusu ve serum örneklerinde ELISA yöntemiyle karşılaştırmışlar; periodontitisli bireylerin dişeti dokusu örneklerinde kontrol örneklerine oranla her iki sitokinde de artış olduğunu izlemişler, ancak serum örneklerinde hastalıklı ve kontrol grubu arasında önemli bir fark saptamamışlardır.

Stashenko ve ark. (1991) periodontitisli bireylerin dişeti dokusunda ELISA metoduyla yaptıkları ve IL-1 β 'yı değerlendirdikleri çalışmalarında, periodontal hastalığın aktif olduğu bölgelerde, inaktif ve kontrol örneklerine göre IL-1 β seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptamışlar ve IL-1 β 'nın hastalık aktivitesini ve ataşman kaybını tespit etmekte önemli bir belirleyici olduğunu rapor etmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda IL-1 β 'nin kronik enflamasyonda doku yıkımı ve ilerlemesinin en önemli belirleyicilerden biri olduğu, çünkü IL-1 β seviyesinin periodontitiste konağa-bağımlı doku yıkımı ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Stashenko ve ark., 1991; Iacopino ve ark., 1997). Gingival dokularda artmış IL-1 β seviyesinin, kronik enflamatuvar hastalığın duyarlı ve güvenilir bir belirleyicisi olduğu kabul edilmiştir (Offenbacher ve ark., 1993; Iacopino ve ark., 1997).

Enflamasyonlu dişeti dokusunda sitokin salgılanmasının sistematik olarak değerlendirilmesinde, hassasiyeti yüksek olan ELISA, Northern Analizi ve RT-PCR gibi analitik tekniklerin gelişimi ile uygun incelemeler yapılabilmektedir. Bu çalışmalarda, enflamasyonlu bölgelerdeki DOS'da IL-1 ve TNF- α 'nın fizyolojik olarak anlamlı konsantrasyonlarda bulunduğu gösterilmiştir (Birkedal-Hansen, 1993).

Rasmussen ve ark. (2000), periodontal hastalıklı bölgelerde DOS'da bulunan kemik rezorbe edici faktörleri incelemeyi amaçladıkları çalışmalarında, ELISA ve RIA metodlarıyla IL-1 α , IL-1 β ve PGE2 aktivitelerini değerlendirmişler ve hastalıklı bölgelerde aktiviteyle birlikte aynı zamanda bu mediatörlerin miktarının da arttığını rapor etmişlerdir.

IL-1 ve IL-6'nın lokal enflamatuvar reaksiyonlarda görev aldıkları ve buna ilaveten IL-1'in fibroblastları, IL-1 ve diğer sitokinleri üretmeleri için aktive ettikleri bildirilmiştir (Mauviel ve ark., 1988; Dinarello ve ark., 1989; Takada ve ark., 1991).

König ve ark. (1988), farelerde yaptıkları çalışmalarında TNF- α ve IL-1 uygulamasının kemik rezorpsiyonunu doza bağlı olarak arttırdığını ve maksimum etkinin 2-3gün sonra olduğunu bildirmişlerdir.

Bulguları verilen deneysel ve klinik periodontitis çalışmalarındaki sonuçlarla uyumlu olacak şekilde saptadığımız IL-1 β seviyesindeki yükselme,

deney gruplarımızda osteoklastik aktivitedeki artışı, hastalığın varlığını ve süregenliğini göstermektedir.

Çalışmamızda mandibular 1.molar dişlere ipek ligatür uyguladığımız birinci deney grubunda, histopatolojik olarak 40.günde iltihabi hücre infiltrasyonu, ataşman kaybı ve vasküler permeabilitede artış saptadık.

Histopatolojik çalışmalarda, Györfi ve ark. (1994), ratlarda mandibular 1.molar dişlere ligatürün yerleştirilmesinden 14 gün sonra 1.molar diş bölgesindeki gingivomukozal dokuda vasküler permeabilitede artış saptamışlardır. Ayrıca 8 ve 14.günlerde ligatüre yakın olan bağ dokusunda iltihabi hücre infiltrasyonu olduğunu bildirmişlerdir.

Koide ve ark. (1995), maksiller 2.molar diş bölgesinde 5.0 ipek ligatürle oluşturdukları periodontitis modelinde; 3.günde iltihabi infiltrasyon ve epitelin hemen altındaki bağ dokusunda kapiller dilatasyon izlemişlerdir. İltihabi hücrelerin çoğunlukla nötrofillerden ve az sayıda monositlerden oluştuğunu bildirmişlerdir. 3, 7 ve 14.günlerde ligatürün yerleştirildiği bölgede ataşman kaybı olduğunu saptamışlardır.

Ligatürle oluşturduğumuz periodontitis modelinde 40.günde alveol kemiği rezorpsiyonu olduğunu histopatolojik ve radyografik metodlarla tayin ettik.

Yapılan çalışmalarda ligatür yardımıyla elde edilen periodontitis modellerinde 8-12.günlerde kemik rezorpsiyonunun oluştuğu bildirilmiştir (Rovin ve ark., 1966; Nowotny ve Sanavi, 1983). Nowotny ve Sanavi (1983), ligatürü maksiller 2.molar dişe yerleştirdikleri çalışmalarında kemik yıkımını histolojik ve radyografik metodlarla tespit etmişlerdir.

Sallay ve ark. (1982), ligatürü ratların maksiller 2.molar dişlerine yerleştirmişler, 9 ve 14.günlerde bakteriyel birikim, akut enflamasyon, kemik yıkımı ve vestibül kemik marjinde sekestrizasyon izlemişlerdir.

Samejima ve ark. (1990), ipek ligatürü maksiller 2.molar diş bölgesine yerleştirdikleri ve ratları 1,3,5,8,11 ve 18.günlerde sakrifiye ettikleri çalışmalarında, ligatür yerleştirildikten 1 gün sonra; dişeti formunda değişiklik, ülserasyon ve gingival fibrillerde düzensizlik saptamışlardır. 3 gün sonra epitelyal ataşmanın kaybolduğunu, dişetinin mine-sement sınırı altında sement yüzeyine tutunduğunu ve vestibül alveol kemiğinde çok sayıda Howship lakunleri ve osteoklastlar olduğunu bildirmişlerdir. 5.günde; periodonsiyumda akut iltihabi birikimini ve osteoklastik kemik rezorpsiyonunu izlemişlerdir. 8.günde; ligatürün hemen yanında yeni epitelyal ataşmanın oluştuğunu; osteoklast ve nötrofil sayısında azalma olduğunu saptamışlardır. 11 ve 18.günlerde periodontal dokuda tamir oluştuğunu, ancak epitelyal ataşmanın mine-sement sınırının altında olduğunu bildirmişlerdir.

Histopatolojik olarak ikinci deney grubumuz olan lathyritic grupta 40.günde, periodontal ligamentte organizasyon bozukluğu olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ligatürle oluşturulan periodontitis grubumuzda da aynı bulguya rastlanmıştır.

Lathyrogenlerle ilgili yapılan histopatolojik çalışmalarda, deney hayvanlarının periodontal ligamentinde β -APN uygulamasından 1-2 hafta sonra organizasyon bozukluğu olduğu bildirilmiştir. Normal şartlarda periodontal fibriller sement ve kemik yüzeyine dik olacak şekilde organize olurken, β -APN tedavisinden sonra bu yapının bozulduğu görülmüştür (Cho ve Garant, 1984).

Çalışmamızda kronik lathyrisim oluşturmak amacıyla 40.günde dekapite ettiğimiz lathyritic grupta da alveol kemiği rezorpsiyonu olduğunu belirledik.

Baden ve ark. (1983), β -APN uygulanmasına bağlı ilk lezyonun alveol kemiği ve köklerin başlangıç rezorpsiyonu ile karakterize olduğunu ve uygulamadan 1 hafta sonra izlendiğini bildirmişlerdir. 9.haftada rezorpsiyonun lamina duraya kadar ilerlediğini rapor etmişlerdir.

Ligatür grubunda olduğu gibi ikinci deney grubumuz olan lathyritic grupta da vaskülaritede artış saptanmıştır.

β -APN` uygulanmış ratlarda sadece okluzyonda olan dişlerde belirgin histopatolojik lezyonlar izlenmiştir. İlk değişiklik dolaşımında görülmüştür. Kapillerlerin periodontal ligamentin gingival, orta ve apikal üçlü bölgelerinde, lamina duraya komşu olan alveolün spongiöz kısımlarında dilate olduğu saptanmıştır. Ayrıca hemoraji alanlarına rastlanmıştır. Gingiva ve periodontal ligamentteki vasküler değişiklikler ilk 3 hafta içerisinde izlenmiştir (Baden ve ark., 1983).

Çalışmamızda ultrastrüktürel olarak her iki deney grubunda da fibroblastların aktif olarak kollajen sentezi yapamadıklarını, dolayısıyla ECM`te kollajen yapıda bozulma olduğunu saptadık. Literatürde ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis grubumuzdaki bulgularla karşılaştırabileceğimiz herhangi bir ultrastrüktürel çalışmaya rastlanmamıştır.

Elektronmikroskopik olarak β -APN uygulanmış lathyritic fibroblastlarda, çekirdeğin hücrenin proksimal kısmında yerleştiği, golgi aygıtının merkezde konumlandığı ve distal kısmın çoğunlukla granüllü endoplazmik retikulum (RER) ile dolu olduğu görülmüştür. β -APN uygulanmış fibroblastların normal fibroblastlara göre daha fazla RER içerdiği, bu görüntünün hücrenin küçülmesi ya da kollajen sekresyonundaki değişikliklerle ilgili olabileceği bildirilmiştir. Normal fibroblastların anterior ve posterior yöne uzanan hücre uzantılarıyla karakterize olduğu ve β -APN uygulamasından sonra bu hücre uzantılarının boyutlarının küçüldüğü gösterilmiştir. Sitoplazmik uzantılardaki boyut küçülmesine rağmen hücrenin distal kısmının kendine özgü morfolojisini koruduğu izlenmiştir. Distal kısmın sitoplazmik filamentler, mikrotübüller ve kollajen sekresyonu yapan granüllerle dolu olan çeşitli kısa hücre uzantılarından oluştuğu gösterilmiştir (Cho ve Garant, 1984).

Elektron mikroskop seviyesinde lathyritic molarlarda, fibroblastlar arasında çok az kollajen olduğu ya da hiç olmadığı bildirilmiştir. Bunun basit nedeni için, ultrastrüktürel açıdan fibroblastların kollajen sentezleyip salgılayamamaları olduğu yorumu yapılmıştır (Shore ve ark., 1984).

Çekme testi incelemeleri, radyografik değerlendirme, biyokimyasal analizler, histopatolojik, ultrastrüktürel yöntemleri kullanarak incelediğimiz ve kontrol grubuyla kıyasladığımız, ligatürle oluşturulan deneysel periodontitis ve sistemik olarak lathyrogen enjeksiyonu ile elde edilen periodontal defektlerde benzer bulgulara rastladık. Elde edilen bu veriler çerçevesinde deneysel lathyrism modelinin çeşitli çalışmalarda kullanılmak amacıyla alternatif deneysel periodontitis modeli olabileceğini savunmakla birlikte bu konuda yapılacak mikrobiyolojik incelemeleri de içeren yeni çalışmalara gereksinim olduğu kanaatindeyiz.

Elde ettiğimiz bu model ideal bir periodontitis modeli olmayabilir, ancak ileride yapılacak olan çalışmalarda elde edilen rejeneratif bir preparatın periodonsiyuma etkisini belirleyebilmek için kullanılabilir olacağı düşüncesindeyiz. Hazırlık ve takip dönemlerinin daha rahat olması gibi nedenlerle immünolojik ve genetik çalışmalarda da kolaylık sağlayacağı kanaatindeyiz.

6.SÖNÜÇ VE ÖNERİLER

Ligatürle oluşturulan periodontitis ve deneysel lathyrism modelini kontrol grubuyla karşılaştırdığımız çalışmamızda;

1-Deney hayvanlarının vücut ağırlıklarında her iki deney grubunda da deney periyodu sonunda azalma olurken kontrol grubunda artış olduğu saptandı.

2-Mandibular 1.molar dişi çekmek için uygulanan kuvvet miktarının deney gruplarında, kontrol grubuna oranla daha düşük olduğu belirlendi.

3-Serum alkalin fosfataz aktivitesinin deney gruplarında azaldığı görüldü.

4-Deney gruplarında dişeti IL-1 β seviyesinde artış olduğu saptandı.

5-Histopatolojik olarak deney gruplarında, kontrol grubundan farklı olarak; iltihabi hücre infiltrasyonu, alveol kemiği rezorpsiyonu, periodontal ligament organizasyon bozukluğu ve vaskülaritede artış izlendi.

6-Ultrastrüktürel incelemelerde deney gruplarında fibroblast aktivitesinde azalma, kollajen yapıda düzensizlik ve organizasyon bozukluğu saptandı.

7-Radyolojik, biyokimyasal, histopatolojik ve ultrastrüktürel yöntemlerle karşılaştırdığımız deney gruplarımızda benzer bulgulara rastladık. Lathyrinik ratların alternatif deneysel periodontitis modeli olarak kullanılabileceğine destek olarak ileride planlanacak olan mikrobiyolojik değerlendirmelerin de yer aldığı çalışmaların bu konuda daha detaylı bilgi vereceği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- Anan, H., Akamine, A., Hara, Y., Maeda, K., Hashiguchi, I., Aono, M. (1991). A histochemical study of bone remodelling during experimental apical periodontitis in rats. *Journal of Endodontics*, 17(7), 332-337.
- Anan, H., Akamine, A., Maeda, K. (1993). An enzyme histochemical study of the behavior of rat bone cells during experimental apical periodontitis. *Journal of Endodontics*, 19(2), 83-86.
- Armitage, G.C. (1996). Periodontal diseases: Diagnosis. *Annals of Periodontology*, 1, 37-215.
- Aukhil, I., Petterson, E., Suggs, C. (1996). Guided tissue regeneration: an experimental study in beagle dogs. *Journal of Periodontology*, 57(12), 727-734.
- Baden, E., Bouissou, H. (1987). Experimental lathyrism: Exostoses and aneurysmal-like bone cysts of the mandible in the rat. *Annals of Pathology*, 7(4-5), 297-303.
- Baden, E., Bouissou, H., Hackensack, N.J., Toulouse. (1983). The effect of chronic beta-aminopropionitrile intoxication on the periodontium of the rat. A light microscopic and histochemical study with review of the literature. *Oral Surgery*, 55(1), 34-46.
- Bailey, A.J., Robins, S.P., Balian, G. (1974). Biological significance of the intermolecular crosslinks of collagen. *Nature*, 251, 105-109.
- Barrow, M.V., Simpson, C.F., Miller, E.J. (1974). Lathyrism: A review. *The Quarterly Review of Biology*, 49(2), 101-128.
- Bartold, P.M., Narayanan, A.S. (1998). *Biology of the periodontal connective tissues*, Quintessence Publishing Co, Inc Illinois, USA.
- Beertsen, W., Everts, V. (1977). The site of remodelling of collagen in the periodontal ligament of the mouse incisor. *Anatomical Record*, 189, 479-498.
- Berkovitz, B.K.B., Migdalski, A., Solomon, M. (1972). The effect of the lathyritic agent aminoacetonitrile on the unimpeded eruption rate in normal and root-resected rat lower incisors. *Archives of Oral Biology*, 17, 1755-1763.
- Bien, S.M. (1966). *Advances in Oral Biology*, Academic Press, New York, 173-202.
- Biesecker, J.L., Marcove, R.C., Huvos, A.G., Mike, V. (1970). Aneurysmal bone cysts: A clinicopathologic study of 66 cases. *Cancer*, 26, 615-625.

- Binder, T.A., Goodson, J.M., Socransky, S.S. (1987). Gingival fluid levels of acid and alkaline phosphatase. *Journal of Periodontal Research*, **22**, 14-19.
- Birkedal-Hansen, H. (1993). Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *Journal of Periodontal Research*, **28**, 500-510.
- Blumenthal, N.M. (1988). The use of collagen membranes to guided regeneration of new connective tissue attachment in dogs. *Journal of Periodontology*, **59(12)**, 830-836.
- Blumsohn, A., Hannon, R.A., Wrate, R., Barton, J., al-Dehaimi, A.W., Colwell, A., Eastell, R. (1994). Biochemical markers of bone turnover in girls during puberty. *Clinical Endocrinology*, **40(5)**, 663-670.
- Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (1994). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition*, Saunders Company, London.
- Caffesse, R.G., Dominguez, L.E., Nasjleti, C.E., Castelli, W.A., Morrison, E.C., Smith, B.A. (1990). Furcation defects in dogs treated by GTR. *Journal of Periodontology*, **61**, 45-50.
- Caton, J.G. (1997). Overview of clinical trials on periodontal regeneration. *Annals of Periodontology*, 215-222.
- Chen, C.C., Chang, K.L., Huang, J.F., Huang, J.S., Tsai, C.C. (1997). Correlation of interleukin-1 beta, interleukin-6, and periodontitis. *Kao Hsiung Hsueh Ko Hsueh Tsa Chih*, **13(10)**, 609-617.
- Chiba, M., Ohkawa, S. (1980). Measurement of the tensile strength of the periodontium in the rat mandibular first molar. *Archives of Oral Biology*, **25**, 569-572.
- Cho, M., Garant, P.R. (1984). The effect of beta-aminopropionitrile on the periodontal ligament. I. Ultrastructure of fibroblasts and matrix. *Journal of Periodontal Research*, **19**, 247-260.
- Chowcat, N.L., Savage, F.L., Hembry, R.M., Boulos, P.B. (1988). Role of collagenase in colonic anastomoses: A reappraisal. *British Journal of Surgery*, **75**, 330-334.
- Christenson, R.H. (1997). Biochemical markers of bone metabolism: An overview. *Clinical Biochemistry*, **30(8)**, 573-593.
- Cole, A.S., Eastoe, J.E. (1998). *Biochemistry and Oral Biology, Second Edition*, Reed Educational and Professional Publishing Ltd, Oxford.
- Delmas, P.D. (1993). Biochemical markers of bone turnover. *Journal of Bone and Mineral Research*, **8 Supp.**, 549-555.

- Dinarello, C.A. (1989). Interleukin-1 and its biologically related cytokines. *Advances in Immunology*, **44**, 153-205.
- Dongari-Bagtzoglou, A.I., Ebersole, J.L. (1996). Gingival fibroblast cytokine profiles in Actinobacillus-associated periodontitis. *Journal of Periodontology*, **67**(9), 871-878.
- Doxey, D.L., Cutler, C.W., Iacopino, A.M. (1998). Diabetes prevents periodontitis-induced increases in gingival platelet derived growth factor-B and interleukin 1-beta in a rat model. *Journal of Periodontology*, **69**, 113-119.
- Ebersole, J.L., Cappelli, D., Mott, G., Kesavalu, L., Holt, S.C., Singer, R.E. (1999). Systemic manifestations of periodontitis in the non-human primate. *Journal of Periodontal Research*, **34**(7), 358-362.
- Ebersole, J.L., Singer, R.E., Steffensen, B., Filloon, T., Kornman, K.S. (1993). Inflammatory mediators and immunoglobulins in GCF from healthy, gingivitis and periodontitis sites. *Journal of Periodontal Research*, **28**, 543-546.
- Eren, K. (1985). Furkasyonlarda topikal uygulanan kimyasal bileşimlerin etkilerinin araştırılması. Doktora tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji A.D.

tissue culture. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **129**, 465-469.

Grillo, H.C., Watts, G.T., Gross, J. (1958). Studies in wound healing: I. Contraction and the wound contents. *Annals of Surgery*, **148**(2), 145-152.

Gross, J., Levene, C.I. (1959). Effect of β -aminopropionitrile on extractability of collagen from skin of mature guinea pigs. *American Journal of Pathology*, **35**, 687-688.

Györfi, A., Fazekas, A., Suba, Z.S., Ender, F., Rosivall, L. (1994). Neurogenic component in ligature-induced periodontitis in the rat. *Journal of Clinical Periodontology*, **21**, 601-605.

Henry, J.B. (1996). *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Nineteenth Edition*, W.B. Saunders Company, United States.

Iacopino, A.M., Doxey, D., Cutler, C.W., Nares, S., Stoeber, K., Fojt, J., Gonzales, A., Dill, R.E. (1997). Phenytoin and cyclosporine A specifically regulate macrophage phenotype and expression of platelet-derived growth factor and interleukin-1 in vitro and in vivo: Possible molecular mechanism of drug-induced gingival hyperplasia. *Journal of Periodontology*, **68**, 73-83.

Insoft, M., King, G.J., Keeling, S.D. (1996). The measurement of acid and alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* **109**(3), 287-

- [H]tetracycline excretion from prelabeled mice. *Journal of Bone and Mineral Research*, **3(6)**, 621-627.
- Lees, S., Hanson, D., Page, E., Mook, H. (1994). Comparison of dosage-dependent effects of β -aminopropionitrile, sodium fluoride, hydrocortisone on selected physical properties of cortical bone. *Journal of Bone and Mineral Research*, **9(9)**, 1377-1389.
- Levene, C.I., Gross, J. (1961). Alterations in state of molecular aggregation of collagen induced in chick embryos by β -aminopropionitrile (Lathyrus factor). *Journal of Experimental Medicine*, **114**, 295-310.
- Listgarten, M.A. (1973). Intracellular collagen fibrils in the periodontal ligament of the mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit. *Journal of Periodontal Research*, **8**, 335-342.
- Listgarten, M.A. (1994). The structure of dental plaque. *Periodontology 2000*, **5**, 52-65.
- Manson, J.D., Eley, B.M. (2000). *Outline of Periodontics, Fourth Edition*, Wright, Oxford.
- Mauviel, A., Temime, N., Charron, D., Loyau, G., Pujol, J.P. (1988). Interleukin-1 α and β induce interleukin-1 β gene expression in human dermal fibroblasts. *Biochemistry Biophysics Research Communications*, **156**, 1209-1214.
- McCulloch, C.A.G., Bordin, S. (1991). Role of fibroblast subpopulations in periodontal physiology and pathology. *Journal of Periodontal Research*, **26**, 144-154.
- Melcher, A.H., Chan, J. (1981). Phagocytosis and digestion of collagen by gingival fibroblasts in vivo: A study of serial sections. *Journal of Ultrastructure Research*, **77**, 1-36.
- Michaeli, Y., Pitaru, S., Zajicek, G., Weinreb, M.M. (1975). Role of attrition and occlusal contact in the physiology of the rat incisor: IX. Impeded and unimpeded eruption in lathyritic rats. *Journal of Dental Research*, **54(4)**, 891-896.
- Moore, W.E., Holdeman, L.V., Smibert, R.M. (1982). Bacteriology of severe periodontitis in young adult humans. *Infection and Immunity*, **38**, 1137-1148.
- Myrillas, T.T., Linden, G.J., Marley, J.J., Irwin, C.P. (1999). Cyclosporin A regulates interleukin-1 β and interleukin-6 expression in gingiva: Implications for gingival overgrowth. *Journal of Periodontology*, **70**, 294-300.

Narayanan, A.S., Siegel, R.C., Martin, G.R. (1972). On the inhibition of lysyl oxidase by β -aminopropionitrile. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **46**(2), 745-751.

Newman, M.G., Girenco, V., Wiener, M. (1978). Predominant microbiota associated with periodontal health in the aged. *Journal of Periodontology*, **49**, 553-559.

Nollie, G.J., Sandhu, H.S., Cernovsky, Z.Z., Canham, P.B. (1996). Regional differences in molecular cross-linking of periodontal ligament collagen of rat incisor, by polarizing microscopy. *Connective Tissue Research*, **33**(4), 283-289.

Novak, M.J., Polson, A.M., Freeman, E. (1984). Effects of gold salts on experimental periodontitis. *Journal of Periodontology*, **55**(2), 70-77.

Offenbacher, S. (1996). Periodontal diseases: Pathogenesis. *Annals of Periodontology*, **1**, 821-878.

Offenbacher, S., Collins, J.G., Heasman, P.A. (1993). Diagnostic potential of host response mediators. *Advances in Dental Research*, **7**, 175-181.

Ohshima, S., Nakamura, G., Chiba, M. (1989). Effects of lathyrogens on the mechanical strength of the periodontal ligament in the rat mandibular first molar. *Journal of Periodontal Research*, **24**, 343-350.

- Rasmussen, L., Hönström, L., Lerner, U.H. (2000). Characterization of bone resorbing activity in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, **27**, 41-52.
- Reynolds, J.J., Meikle, M.C. (1997). Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. *Periodontology 2000*, **14**, 144-157.
- Rovin, S., Costich, E.R., Gordon, H.A. (1966). The influence of bacteria and irritation in the initiation of periodontal disease in germfree and conventional rats. *Journal of Periodontal Research*, **1**, 193-203.
- Sallay, K., Sanavi, I., Ring, I., Pham, P., Behling, U.H., Nowotny, A. (1982). Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. *Journal of Periodontal Research*, **17**, 263-274.
- Samejima, Y., Ebisu, S., Okada, H. (1990). Effect of infection with *Eikenella corrodens* on the progression of ligature-induced periodontitis in rats. *Journal of Periodontal Research*, **25**, 308-315.
- Savant, P.L., Shibko, S., Kumta, U.S., Tappel, A.L. (1964). Isolation of rat liver lysosomes and their general properties. *B.B.A.*, **85**, 82-92.
- Schou, S., Holmstrup, P., Kornman, S. (1993). Non-human primates used in studies of periodontal disease pathogenesis. *Journal of Periodontology*, **64**, 497-508.
- Schroeder, H.E., Lindhe, J. (1975). Conversion of stable established gingivitis in the dog into destructive periodontitis. *Archives of Oral Biology*, **20**, 775-782.
- Seibel, M.J., Woitge, H.W. (1999). Basic principles and clinical applications of biochemical markers of bone metabolism: Biochemical and technical aspects. *Journal of Clinical Densitometry*, **2(3)**, 299-321.
- Seyama, Y., Mori, Y., Niinobe, S. (1972). Effect of calcitonin on experimental osteolathyrisism (II). Action of calcitonin on collagen metabolism. *Endocrinology Japon*, **19(1)**, 27-33.
- Seyama, Y., Mori, Y., Niinobe, S. (1972). Effect of calcitonin on experimental osteolathyrisism (III). Selective inhibition of collagen resorption by calcitonin. *Endocrinology Japon*, **19(1)**, 35-40.
- Shibutani, T., Murahashi, Y., Tsukada, E., Iwayama, Y., Heersche, J.N.M. (1997). Experimentally induced periodontitis in beagle dogs causes rapid increases in osteoclastic resorption of alveolar bone. *Journal of Periodontology*, **68**, 385-391.
- Shore, R.C., Berkovitz, B.K.B., Moxham, B.J. (1984). Histological study, including ultrastructural quantification, of the periodontal ligament in the lathyritic rat mandibular dentition. *Archives of Oral Biology*, **29(4)**, 263-273.

- Sigurdsson, T.J., Tatakis, D.M., Lee, M.B., Wikesjö, U.M.E. (1995). Periodontal regenerative potential of space-providing ePTFE and recombinant human bone morphogenic proteins. *Journal of Periodontology*, **66**, 511-521.
- Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Dzink, J.L., Hilman, J.D. (1988). Association between microbial species in subgingival plaque samples. *Oral Microbiology and Immunology*, **3**, 1-7.
- Sodek, J. (1976). A new approach to assessing collagen turnover by using a micro-assay. *Biochemical Journal*, **160**, 243-246.
- Sodek, J. (1978). A comparison of collagen and non-collagenous protein metabolism in rat molar and incisor periodontal ligaments. *Archives of Oral Biology*, **23**, 977-982.
- Stashenko, P., Fujiyoshi, P., Obernesser, M.S., Prostack, L., Haffajee, A.D., Socransky, S.S. (1991). Levels of interleukin 1 β in tissue from sites of active periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, **18**, 548-554.
- Takada, H., Mihara, J., Morisaki, I., Hamada, S. (1991). Induction of interleukin-1 and interleukin-6 in human gingival fibroblast cultures stimulated with *Bacteroides* lipopolysaccharides. *Infection and Immunity*, **59**(1), 295-301.
- Takahashi, K., Takashiba, S., Nagai, A., Takigawa, M., Myoukai, F., Kurihara, H., Murayama, Y. (1994). Assessment of interleukin-6 in the pathogenesis of periodontal disease. *Journal of Periodontology*, **65**, 147-153.
- Ten Cate, A.R., Deporter, D.A., Freeman, E. (1976). The role of fibroblasts in the remodelling of periodontal ligament during physiologic tooth movement. *American Journal of Orthodontics*, **69**(2), 155-168.
- Tinker, D., Rucker, R.B. (1985). Role of selected nutrients in synthesis, accumulation, and chemical modification of connective tissue proteins. *Physiological Reviews*, **65**(3), 607-657.
- Tonetti, M.S. (1997). Molecular factors associated with compartmentalization of gingival immune responses and transepithelial neutrophil migration. *Journal of Periodontal Research*, **32**, 104-108.
- Trnavska, Z., Trnavsky, K. (1968). Effect of antirheumatic drugs on experimental lathyrism. *Biochemical Pharmacology*, **17**, 71-74.
- Tsurata, M., Eto, K., Chiba, M. (1974). Effect of daily or 4-hourly administrations of lathyrogens on the eruption rates of impeded and unimpeded mandibular incisors of rats. *Archives of Oral Biology*, **19**, 1221-1226.

- White, C., Hancock, E.B., Garetto, L.P., Kafwary, A.A. (1994). A histomorphometric study on the healing of class 3 furcation defects utilizing bone labelling in beagle dogs. *Journal of Periodontology*, **65**, 84-92.
- Wills, D.J., Picton, D.C.A., Davies, W.I.R. (1976). A study of the fluid systems of the periodontium in macaque monkeys. *Archives of Oral Biology*, **21**, 175-185.
- Woessner, J.F. (1973). Mammalian collagenases. *Basic Science and Pathology*, **96**, 310-326.
- World Health Organization. (1987). Oral health surveys: Basic methods. **Third Edition**, Geneva.
- Yamaga, M., Iwaku, M., Ozawa, H. (1992). Alveolar bone remodelling in the early stage of experimental apical periodontitis in the rat mandible. *Archives of Histology and Cytology*, **55(2)**, 137-150.
- Yamaguchi, S. (1992). Analysis of stress-strain curves at fast and slow velocities of loading in vitro in the transverse section of the rat incisor periodontal ligament following the administration of β -aminopropionitrile. *Archives of Oral Biology*, **37(6)**, 439-444.
- Yamalik, N., Kılınc, K., Çağlayan, F., Eratalay, K., Çağlayan, G. (1998). Molecular size distribution analysis of human gingival proteoglycans and glycosaminoglycans in specific periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, **25**, 145-152.
- Yamane, A., Fukui, T., Chiba, M. (1997). In vitro measurement of orthodontic tooth movement in rats given β -aminopropionitrile or hydrocortisone using a time-lapse videotape recorder. *European Journal of Orthodontics*, **19**, 21-28.

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Kırkağaç/Manisa'da doğdum. İlköğrenimimi Kırkağaç Türkbirliğı İlkokulu, ortaöğrenimimi Kırkağaç Lisesinde tamamladım. 1991 yılında Marmara Üniversitesi Dişhekimliğı Fakültesinde başladığım, 1 yılı İngilizce hazırlık olan 6 yıllık dişhekimliğı eğitimimi birincilik derecesiyle Temmuz 1997'de tamamladım. Aynı dönem rektörlük tarafından verilen üstün başarı ödülünü aldım. Eylül 1997'de Ondokuz Mayıs Üniversitesi Dişhekimliğı Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalında doktora programına başladım. Haziran 1999'da doktora ders programını ve Şubat 2000'de doktora yeterlik sınavını başarıyla tamamladım. Halen aynı anabilim dalında doktora öğrencisi olarak hizmet vermekteyim.



T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMAN MERKEZİ