



**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SAĞLIKLI VE İRREVERSİBLE PULPİTİSLİ PULPA  
DOKULARINDAKİ 17 $\beta$ -ÖSTRADİOL HORMON VARLIĞININ  
ARAŞTIRILMASI VE DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dt. Seher KARAGÜL**

**Oral Diagnoz ve Radyoloji Programı  
Doktora Tezi**

**ANKARA  
2006**

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Oral Diagnoz ve Radyoloji Programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Hilmi KANSU  
Hacettepe Üniversitesi

Danışman : Doç. Dr. Aydan KANLI  
Hacettepe Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Sebahat GÖRGÜN  
Ankara Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Özden KANSU  
Hacettepe Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Sema DURAL  
Hacettepe Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim–Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hakan S. ORER  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmamın oluşması aşamalarında her zaman yanımda olup tecrübesini, bilimsel desteğini, sabır ve anlayışını eksik etmediği için değerli hocam ve danışmanım Sayın Doç. Dr. Aydan Kanlı'ya,

Tez çalışmalarım sırasında, tez izleme komitesinde görev alarak yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Hilmi Kansu ve Sayın Prof. Dr. Özden Kansu'ya,

Laboratuvar çalışmalarında deneylerin yapılmasını ve değerlendirilmesini gerçekleştiren Biyokimya Uzmanı Sayın Dr. Oytun Portakal Akçin'e ve yardımlarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Hasan Alaçam'a,

Tez çalışmalarım sırasında örneklerin toplanması için gerekli ortamı ve yardımı sağlayan Endodonti Anabilim Dalı ve Ağız Hastalıkları ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve asistanlarına,

İstatistiksel değerlendirmelerdeki yardımlarından dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Umut Arslan'a,

Doktora eğitimim süresince engin tecrübe ve bilgi birikimlerinden faydalandığım Oral Diagnoz ve Radyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve öğretim görevlilerine,

Tez çalışmalarım sırasında anlayış ve desteklerini esirgemeyen Anabilim Dalımız araştırma görevlilerine,

Yetişmemde büyük katkıları bulunan, eğitimim süresince destekleri ile hep yanımda olan sevgili annem, babam ve kardeşlerime,

Tez çalışmam süresince varlığı ve sevgisi ile bana güç veren eşime,

Teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi Tarafından Desteklenmiştir (06 T07-102003).

## ÖZET

**Karagül, S. “Sağlıklı Ve İrreversible Pulpitisli Pulpa Dokularındaki 17β-Östradiol Hormon Varlığının Araştırılması ve Düzeylerinin Karşılaştırılması” Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Oral Diagnoz ve Radyoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2006.** Bu çalışmada, 17β-östradiol (E<sub>2</sub>)

hormonunun pulpa dokusundaki varlığı ve irreversible pulpitisli pulpa dokularındaki düzeyi araştırılmıştır. Örnekler cerrahi olarak çekilen 23 gömülü dişten (8 erkek ve 15 kadın) ve 33 endodontik tedavi uygulanan dişten (8 erkek ve 25 kadın) elde edilmiştir. Örneklerdeki 17β-östradiol düzeyleri kemilüminesans mikropartikül immünölçüm metodu kullanılarak ölçülmüştür. 17β-östradiol varlığı her iki cinsiyette de hem sağlıklı, hem de irreversible pulpitisli dişlerin pulpa dokularında tespit edilmiştir. Cinsiyete, doku tipine, lokalizasyona, mensturasyon fazına ve restorasyon mevcudiyetine göre pulpa dokusunda ölçülen 17β-östradiol düzeylerinin istatistiksel analizi yapılmıştır. Erkek ve kadın hastalar arasında 17β-östradiol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ( $p < 0,001$ ). Pulpa dokularında ölçülen 17β-östradiol düzeyleri cinsiyet ve doku tipine göre incelendiğinde; erkeklerde doku tipine göre 17β-östradiol düzeyleri arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmazken ( $p = 0,161$ ), kadınlarda irreversible pulpitisli pulpa örneklerindeki 17β-östradiol değerleri ( $10412,3 \pm 6060,2$ ), sağlıklı pulpa örneklerindeki gruba ( $5407,0 \pm 3743,62$ ) göre daha yüksek bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p = 0,007$ ). Dokularda ölçülen 17β-östradiol düzeyleri lokalizasyona, mensturasyon fazına ve restorasyon mevcudiyetine göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

Bu çalışma diş pulpasındaki 17β-östradiol varlığını ve inflamasyon mevcudiyetinde 17β-östradiol düzeyinde artış olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Östrojen, Diş pulpası, İnflamasyon, Ultrasontrifügasyon, Homojenizasyon

H.Ü.B.B tarafından desteklenmiştir, Tez Destekleme (06 T07-102003)

## ABSTRACT

**Karagül, S. “Examination of the existence and comparison of 17 $\beta$ -estradiol hormone in healthy and irreversible pulpitis affected pulp tissues,” Hacettepe University, Institute of Health Sciences, Oral Diagnosis and Radiology Program PhD thesis, Ankara, 2006.** In the present study the existence of the 17 $\beta$ -estradiol (E<sub>2</sub>) hormone in pulp tissue and its level in pulp tissue with irreversible pulpitis is researched. The samples consisted of 23 impacted teeth (8 men and 15 women) and 33 teeth subjected to endodontic treatment (8 men and 25 women). 17 $\beta$ -estradiol hormone levels were measured on the samples through the Chemiluminesans micro particle immunoassay method. Existence of 17 $\beta$ -estradiol hormone is established in pulp tissues of both gender and in healthy pulp tissues as well as those affected with irreversible pulpitis. Statistical analysis of the 17 $\beta$ -estradiol hormone levels in pulp tissues were done according to gender, tissue type, localization, menstruation period and existence of restoration. Statistically important difference ( $p < 0,001$ ) is established between the 17 $\beta$ -estradiol hormone levels in pulp tissues of women and men. In the examination of 17 $\beta$ -estradiol hormone levels in accordance to gender and tissue types, while in men no difference was statistically seen ( $p = 0,161$ ), in women patients 17 $\beta$ -estradiol hormone levels in pulp tissue with irreversible pulpitis ( $10412,3 \pm 6060,2$ ) was higher compared to the healthy group ( $5407,0 \pm 3743,62$ ) and this was found statistically significant ( $p = 0,007$ ). In examination of 17 $\beta$ -estradiol hormone levels in accordance to localization, menstruation period and existence of restoration, no statistically significant difference is found ( $p > 0,05$ ). This study has shown the existence of 17 $\beta$ -estradiol hormone in pulp of teeth and increase in its level in the presence of inflammation.

**Key Words:** Estrogen, Dental pulp, Inflammation, Ultracentrifugation, Homogenization

Supported by H.Ü.B.A.B, Thesis Grant (06 T07-102003)

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
İNGİLİZCE ÖZET	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
2.1. 17 $\beta$ -Östradiol Hormonu	2
2.1.1. 17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Kimyasal Yapısı	3
2.1.2. 17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Biyosentezi	3
2.1.3. 17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Taşınması	7
2.1.4. 17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Metabolizması	7
2.1.5. 17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Etki Mekanizması	7
2.1.6. 17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Diş Hekimliği ile İlişkisi	13
2.2. Pulpa Dokusu	18
2.2.1. Pulpa Dokusunun Hücreleri	19
2.2.2. Pulpa Dokusunun Lifleri	21
2.2.3. Esas Yapı	21
2.2.4. Pulpa Dokusunun Damarları	22
2.2.5. Pulpa Dokusunun Sinirleri	22
2.2.6. Pulpa Dokusunun Fonksiyonları	23
2.3. Pulpa Dokusunun Patolojileri	25
2.3.1. İrreversible Pulpitisin Etiyolojisi	27
2.3.2. İrreversible Pulpitisin Patogenezi	28
2.3.3. İrreversible Pulpitisin Teşhisi	30
GEREÇ VE YÖNTEM	32

3.1. Klinik Çalışmalar	32
3.1.1. Çalışma Grubunun Seçimi	32
3.1.2. Örneklerin Elde Edilmesi	33
3.2. Laboratuvar Çalışmaları	35
3.2.1. Pulpa Dokusunun Hazırlanması	35
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	42
BULGULAR	49
TARTIŞMA	58
SONUÇLAR	73
KAYNAKLAR	75

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AA	Araşidonik Asit
ADP	Adenozin Trifosfat
BPA	Bisphenol A
bis-DMA	Bisphenol A Dimetakrilat
bis-GMA	Bisphenol A Bisglisidil Metakrilat
CGRP	Kalsitonin Gen-Related Peptit
DHEA	Dehidroepiandrosteron
DHEA-SO <sub>4</sub>	Dehidroepiandrosteron Sülfat
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ER	Östrojen Reseptörleri
E <sub>1</sub>	Östron Hormonu
E <sub>2</sub>	17β-Östradiol Hormonu
E <sub>3</sub>	Östriol Hormonu
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
GABA	γ-amino Bütirik Asit
GM-CSF	Granülosit-Makrofaj Koloni Stimülan Faktör
GnRH	Gonadotropin Salgılayıcı Hormon
HDC	Histidin Dekarboksilaz Enzimi
HDL	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
IL	İnterlökinler
İPP	İrreversible Pulpitisli Pulpa
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
LH	Lutein Yapıcı Hormon
LPS	Lipopolisakkaritler
MCP	Monocyte Chemoattractant Protein
MMP	Matriks Metaloproteinaz
NK-A	Nörokinin A
NY	Nöropeptit Y
ÖRT	Östrojen Replasman Tedavisi

PAF	Platelet Activating Factor
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E <sub>2</sub>
PGI <sub>2</sub>	Prostaglandin I <sub>2</sub>
PMNL	Polimorfonükleer Lökositler
RCF	Göreceli Santrifügal Kuvvet
RLU	Relatif Light Unit
RNA	Ribonükleik Asit
rpm	Rotorun Dakikada Dönme Sayısı
SHBG	Seks Hormon Bağlayıcı Globulin
SLE	Sistemik Lupus Eritematozis
SP	Sağlıklı Pulpa
TGF	Transforming Büyüme Faktörü
TME	Temporomandibular Eklem
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
VIP	Vazoaktif İntestinal Peptit

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2. 1. 17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Sentezi	4
Şekil 2. 2. Menstrüel Siklus Evreleri ve 17 $\beta$ -Östradiol Düzeyi	5
Şekil 3. 1. Sağlıklı Diş Pulpası ve Pulpa Odası	34
Şekil 3. 2. Cam-Cam Homojenizatör	36
Şekil 3. 3. Nüve(NF 800) Marka Sabit-Açılı Santrifüj	38
Şekil 3. 4. Beckman (L7) Marka Ultrasantrifüj	38
Şekil 3. 5. Santrifügasyon Aşamaları	39
Şekil 3. 6. Abbott Architect Cihazı	41
Şekil 3. 7. Shimatzu (UV mini 1240) Marka Tek-Işınlı Spektrofotometre	42
Şekil 4. 1. Pulpa Dokularında Ölçülen E <sub>2</sub> Düzeyinin Cinsiyete Göre Dağılımı	43
Şekil 4. 2. E <sub>2</sub> Düzeyinin Doku Tipine Göre Dağılımı	44
Şekil 4. 3. E <sub>2</sub> Düzeyinin Cinsiyet ve Doku Tipine Göre Dağılımı	45
Şekil 4. 4. E <sub>2</sub> Düzeyinin Lokalizasyona Göre Dağılımı	46
Şekil 4. 5. E <sub>2</sub> Düzeyinin Menstruasyon Fazına Göre Dağılımı	48
Şekil 4. 6. E <sub>2</sub> Düzeyinin Restorasyona Göre Dağılımı	49

## TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3. 1. Grup 1'in Homojenizasyon, Protein, 17 $\beta$ -Östradiol Konsantrasyon Bilgisi	43
Tablo 3. 2. Grup 2'nin Homojenizasyon, Protein, 17 $\beta$ -Östradiol Konsantrasyon Bilgisi	44
Tablo 3. 3. Grup 3'ün Homojenizasyon, Protein, 17 $\beta$ -Östradiol Konsantrasyon Bilgisi	45
Tablo 3. 4. Grup 4'ün Homojenizasyon, Protein, 17 $\beta$ -Östradiol Konsantrasyon Bilgisi	46
Tablo 3. 5. Grup 5'in Homojenizasyon, Protein, 17 $\beta$ -Östradiol Konsantrasyon Bilgisi	47
Tablo 3. 6. Grup 6'in Homojenizasyon, Protein, 17 $\beta$ -Östradiol Konsantrasyon Bilgisi	48
Tablo 4. 1. Hastaların Cinsiyet, Menstrasyon Fazı ve Pulpa Dokusunun Tipi, Lokalizasyon ve Restorasyon'a Göre Dağılımı	49
Tablo 4. 2. Sağlıklı Pulpa ve İrreversible Pulpitis Pulpa Grubunun 50 Cinsiyete Göre Dağılımım	50
Tablo 4. 3. Pulpa Dokularında Ölçülen E <sub>2</sub> Düzeyinin Cinsiyete Göre Dağılımı	51
Tablo 4. 4. E <sub>2</sub> Düzeyinin Doku Tipine Göre Dağılımım	52
Tablo 4. 5. E <sub>2</sub> Düzeyinin Cinsiyet ve Doku Tipine Göre Dağılımım	53
Tablo 4. 6. E <sub>2</sub> Düzeyinin Lokalizasyona Göre Dağılımı	54
Tablo 4. 7. E <sub>2</sub> Düzeyinin Cinsiyete ve Lokalizasyona Göre Dağılımı	55
Tablo 4. 8. E <sub>2</sub> Düzeyinin Menstrasyon Fazına Göre Dağılımı	57
Tablo 4. 9. E <sub>2</sub> Düzeyinin Çürük ve Kompozit Gruplarına Göre Dağılımı	57

## GİRİŞ

Endokrin sistem, hücrelerin ve organların birbirleri ile haberleşmesini ve koordine çalışmasını sağlayarak; iç ortamın korunmasını, dış ve iç zorlamalara uygun yanıtlar vermesini, büyümeyi ve üremeyi kontrol eden bir sistemdir. Endokrin sistem organları, etkilerini hormon adı verilen maddelerle yapmaktadır.

Östrojen hormonları, steroid yapısındaki hormonların başlıcaları olup, son yıllarda klinik durumlarının aydınlatılması, özellikle de biyolojideki rolleri olan gelişim, farklılaşma, üreme ve hemostazdaki etkinliklerinin çözülmesi önem kazanmıştır.

Çalışmamızda hücrelerin, esas maddenin, liflerin, sinirlerin ve kan damarlarının meydana getirdiği aktif bir doku olan pulpa dokusunda, insan vücudundaki en aktif östrojen hormonu olan  $17\beta$ -östradiol hormonunun varlığını araştırmak, sağlıklı ve irreversible pulpitisli pulpa dokularındaki hormon düzeylerini karşılaştırmak amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### 2. 1. 17 $\beta$ -ÖSTRADIOL HORMONU

Endokrin sistem (iç salgı sistemi), salgıladıkları aktif kimyasal araçlarla hücrelerin ve organların birbirleri ile haberleşmesini, birçok aktivitenin koordinasyonunu, iç ve dış etkilere uygun yanıtlar verilmesini, büyümeyi, üremeyi kontrol eden bütünleyici ve düzenleyici bir sistem olarak görev yapmaktadır (1).

Endokrin sistem organları, etkilerini salgıladıkları hormon adı verilen maddelerle yapmaktadır (2). İlk kez 1902 yılında Bayliss ve Starling (3) tarafından kullanılan hormon kelimesi Yunanca kökenli olup, “harekete geçirmek” ya da “bir organı çalıştırmak” anlamına gelmektedir. Günümüzde bu basit tanım kapsamına uyan ancak hormon olmayan pek çok kimyasal madde sentezinin tespit edilmesi sonucu hormon; “endokrin salgı bezleri tarafında salgılanarak, difüzyon veya dolaşım ile diğer vücut bölgelerine taşınarak, en az bir doku veya organda metabolik yolu düzenleyici etkiye sahip, iç bütünlüğün korunmasına veya sürdürülmesine hizmet eden kimyasal maddeler” olarak tanımlanmıştır (4). Hormonların kandaki düzeyleri son derece düşük olup,  $10^{-9}$ - $10^{-12}$  Mol/L arasında değişmektedir (5).

Kimyasal yapılarına göre hormonlar; amin yapısında olanlar, peptid yapısında olanlar ve lipid yapısında olanlar şeklinde ya da yağda çözünenler ve suda çözünenler şeklinde sınıflandırılabilir (6). Steroid hormonları lipid yapısındaki hormonların en önemlilerinden olup, klinik durumlarının aydınlatılması ve özellikle bunların biyolojideki rolleri olan gelişim, farklılaşma, üreme ve hemostazdaki etkinliklerinin çözülmesi günümüzde önem kazanmıştır. Son yıllarda popülerliği oldukça artmış olan steroid yapısındaki hormonlardan biri de östrojenlerdir (7).

Allen ve Doisy (8), östrojen hormonunu ilk kez 1923 yılında domuzların folikül sıvısında tespit etmiştir. Elde edilen bu madde yumurtalıkları çıkarılmış

farelere enjekte edildiğinde kızgınlık (östrus) meydana getirdiği için östrojen adı verilmiştir.

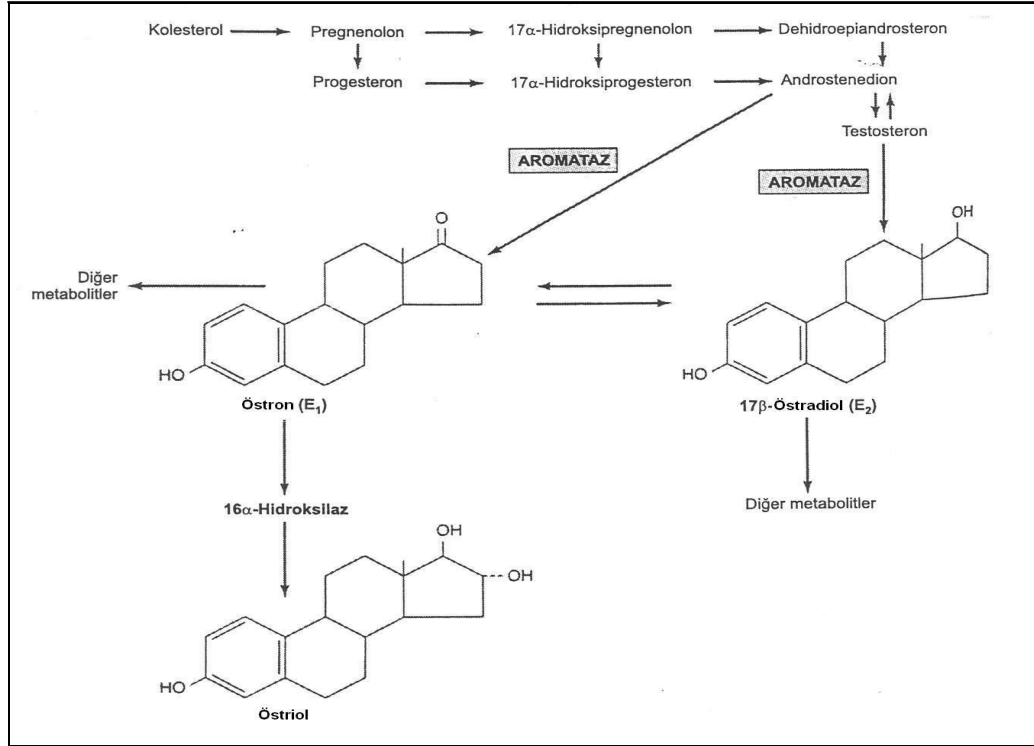
Östrojen hormonu hem erkekte hem de kadında bulunmakla beraber, üreme döneminde kadınlardaki seviyeleri erkeklerden oldukça yüksektir. Ovaryumların teka interna hücrelerinde östrojen etkisi gösteren 20'den fazla kimyasal bileşik tanımlanmıştır. Dolaşımda bulunan doğal östrojen hormonlarının başlıcası 17 $\beta$ -östradiol (E<sub>2</sub>), östron (E<sub>1</sub>) ve östriol (E<sub>3</sub>)'dür. Bunların içinde, seksüel olgunluğa erişmiş bir kadının kanında en fazla bulunan ve en etkili olan östrojen hormonu over kaynaklı 17 $\beta$ -östradiol'dür (9).

### **2. 1.1. 17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Kimyasal Yapısı**

Östrojen hormonu, aromatik A halkasına sahip olup, 3. karbon atomunda fenolik bir hidroksil grubunun yer aldığı 18 karbonlu seks steroididir. 17 $\beta$ -östradiol hormonunun yapısında aromatik A halkasının, 3. karbon (C<sub>3</sub>) atomu'nda bulunan fenolik hidroksil grubu ile beraber 17. karbon (C<sub>17</sub>) atomu'nda hidroksil grubu yer almaktadır (10).

### **2.1. 2. 17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Biyosentezi**

Çeşitli dokularda sentez edilebilen 17 $\beta$ -östradiol hormonunun kadınlardaki en önemli sentez yeri overlerdir. Ovaryum, östrojen sentezinin esas yeri olup, erişkin bir kadında iki taraflı, ortalama 4cm uzunluğunda, 3cm genişliğinde, 1,5cm kalınlığında ve yaklaşık 4-8gr ağırlığındadır (9). Buradaki hormon sentezi diğer steroid hormon sentezi yapan bezlerdeki gibi olup, sentez kolesterolle başlamaktadır (7, 8, 9).



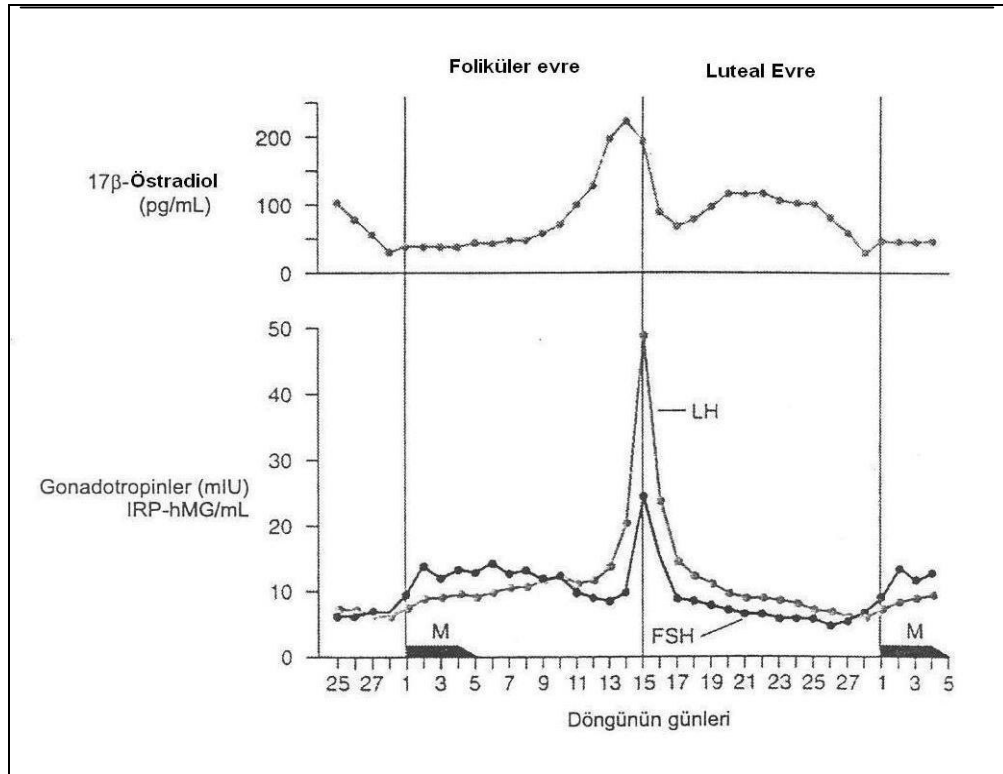
**Şekil 2.1. 17β-Östradiol Hormonunun Sentezi**

Folikül uyarıcı hormon (FSH) etkisi altında, ovaryumun granüloza hücrelerinde kolesterolden oluşturulan progesteron, teka interna hücrelerine geçer. Folikülün teka interna hücreleri, bol miktarda lutein yapıcı hormon (LH) reseptörü taşımaktadır. LH, kolesterolün siklik adenzin monofosfat (siklik AMP) yoluyla teka interna hücrelerinde androstenediona dönüşümünü sağlamaktadır. Teka internada oluşan androstenedionun granüloza hücrelerine geçmesiyle, testesteron ve östrona dönüşüm gerçekleşmektedir. Granüloza hücreleri çok sayıda FSH reseptörü taşımaktadır. FSH, siklik AMP yoluyla aromataz etkinliğini artırarak testesteronun, granüloza hücrelerinde 17β-östradiol'e dönüşümünü sağlamaktadır. Granüloza hücrelerinde bulunan aromataz enzimi, androstenedionun östrona, testesteronun ise 17β-östradiol'e dönüşümünü kolaylaştırmaktadır. Sentezlendikten sonra folikül sıvısına geçen 17β-östradiol'ün bir kısmı burada birikirken, büyük bir kısmı kan dolaşımına geçmek üzere teka interna katmanının kılcal damarlarına gitmektedir (9, 11).

17β-östradiol hormonu kadınlarda over dışında; kas, deri, karaciğer, diğer bazı dokular ve derialtı yağ dokusunda aromataz aktivitesi ile androjenlerin periferel

aromatizasyonu sonucunda da oluşmaktadır. Seksüel olgunluktaki kadınlarda sentez edilen östrojenlerin yaklaşık %40 kadarından sorumlu olan periferal aromatizasyon, postmenapozal dönemde sentezlenen östrojenlerin tamamını gerçekleştirmektedir (Şekil 2.1.), (8, 9).

Erişkin bir kadında serum  $17\beta$ -östradiol düzeyi, menstrüel faza göre değişmektedir (Şekil 2.2.). Kadınlarda ovaryum döngüsü ile eşzamanlı ve ovaryumdan salınan hormonlara (östrojen, progesteron) bağlı olarak endometriumun yapısal ve işlevsel değişimler göstermesi menstrüel siklus olarak adlandırılmaktadır (12). Menstrüel siklus, ergenlikten menopoza kadar olan dönemde (gebelik hariç), düzenli aralıklarla (ortalama 28 gün) devam ederek, folikül evresi (gelişme evresi) ve luteal evre (salgı evresi) olmak üzere iki döneme ayrılmaktadır (13).



**Şekil 2.2. Menstrüel Siklus Evreleri ve  $17\beta$ -Östradiol Düzeyi**

FSH etkisi ile foliküllerin geliştiği ve  $17\beta$ -östradiol hormonunun salındığı döneme rastlayan folikül evresi, menstrüel döngünün 5. gününe doğru başlayıp,

ovulasyona kadar devam etmektedir. Erişkin bir kadında bu dönemde normal serum 17 $\beta$ -östradiol düzeyi 10-375 pg/mL'dir (13, 14)

Luteal evre ise folikül evresinden sonra gerçekleşen ovulasyonla başlayıp, 12-14 gün devam eden ve kanamanın başlamasıyla sona eren dönemdir. Erişkin bir kadında bu dönemdeki serum 17 $\beta$ -östradiol düzeyleri 15-260 pg/mL'dir (13, 14). Ortalama 50 yaş civarında görülen, overlerin yaşlanması ve fonksiyonunu kaybetmesine bağlı olarak gerçekleşen son adet kanamasına menopoz denilmektedir (15). Postmenopozal dönemdeki 17 $\beta$ -östradiol hormonunun çoğunun kaynağı adrenal androjenler olup, postmenopozdaki bir kadının normal serum 17 $\beta$ -östradiol düzeyi 0-4 mg/gün'dür (14).

Hamilelikle beraber 17 $\beta$ -östradiol, östron ve östriol kan düzeyleri artmaktadır. Fetüs adrenalinden sentezlenen dehidroepiandrosteron (DHEA) ve dehidroepiandrosteron sülfat (DHEA-SO<sub>4</sub>), fetus karaciğerinde 16 $\alpha$  hidroksi DHEA oluşturmakta ve bu bileşikler daha sonra plasentada östriol ve 17 $\beta$ -östradiol'e dönüşmektedir (9).

Erkeklerde en önemli 17 $\beta$ -östradiol kaynağı testislerdir. Testesteron ve östronun ekstraplanduler dokularda periferal aromatisasyonu, erkeklerdeki 17 $\beta$ -östradiol hormonunun diğer kaynağıdır. Periferal aromatisasyonda rol oynayan östron, başta yağ dokusu olmak üzere çeşitli organ dokularında (karaciğer, böbrekler, akciğer, deri, beyin, çizgili kaslarda) ve böbreküstü bezi kabuk kesiminden kana geçen androstenediondan üretilmektedir (7). Erkeklerdeki östrojenlerin yaklaşık % 85'i androjenlerin periferal aromatisasyonu ile oluşmaktadır (9). Erişkin bir erkekte normal serum 17 $\beta$ -östradiol düzeyi 10-50 pg/mL'dir (14).

Doğada östrojenler; petrol, maden kömürü, bazı bitkilerin tohum ve filizlerinde de bulunmaktadır. Ayrıca yaklaşık 50 bitki türünde bitkisel östrojenler tespit edilmiştir. Bitkilerde bulunan trifeniletin türevleri gibi bazı östrojenik ön maddeler de vücuda girdikten sonra uğradıkları değişimler sonucunda östrojenik etki göstermektedir (8).

### 2.1. 3. 17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Taşınması

Sentez edilerek kana verilen östrojen hormonu depo edilememektedir. Serumda 17 $\beta$ -östradiol'ün %97'den fazlası plazma proteinlerine bağlı olarak taşınmakta olup, bunun %60'ı albümine, geri kalanı ise seks hormon bağlayıcı globülinlere (SHBG) bağlı haldedir. Hormonun sadece % 1-3 kadarı kanda serbest şekildedir. 17 $\beta$ -östradiol'ün serbest ve albümine bağlı fraksiyonları biyolojik olarak aktiftir (10).

### 2. 1. 4. 17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Metabolizması

Östrojenler; karaciğerde hidroksilasyon, oksidasyon, redüksiyon, metilasyon ve en son basamakta meydana gelen glukuronik asit ve sülfat konjugasyonu ile metabolize olmaktadır. 17 $\beta$ -östradiol ve östron karaciğer hücrelerinde iki yönlü bir reaksiyonla birbirine dönüşmektedir. 17 $\beta$ -östradiol'ün östrona dönüşümünü sağlayan enzim, 17- $\beta$  hidroksidehidrojenazdır. Östronun hormonal etkinliği 17 $\beta$ -östradiol'ün yarısı kadarken, 16- $\alpha$  hidroksiöstron üzerinden östriole dönüşümü, etkinliklerini önemli ölçüde azaltmaktadır (9).

17 $\beta$ -östradiol, östron ve bunlardan oluşan östriol, karaciğerde sülfirik asit ve glukuronik asitle birleşip, etkinliğini kaybetmektedir. Bu bileşiklerin büyük bir kısmı safra içinde bulunmaktadır. Safra içerisinde bağırsaklara gelen bileşikler, enterohepatik dolaşıma katılırken, bir kısmı da böbreklerden idrarla atılmaktadır (9).

### 2.1. 5. 17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Etki Mekanizması:

Bir hormonun hedefi olan hücreler, bu hormonu bağlayıp, hücresel etkilerini sağlayabilmek için özel moleküller içermektedir. Protein yapısındaki bu moleküller “reseptör” olarak adlandırılmaktadır. Östrojen reseptörlerinin östrojen reseptör  $\alpha$  ve östrojen reseptör  $\beta$  olmak üzere iki alt tipi mevcuttur (16, 17, 18).

Bütün reseptörlerde, hormonun bağlanabileceği bir veya birden fazla bölge bulunmaktadır(19). Serbest reseptörler inaktiftir ancak hormonun bağlanması ile oluşan değişiklikler bunlara deoksiribonükleik asit (DNA)'e bağlanma yeteneği kazandırmaktadır. 17 $\beta$ -östradiol hormonu ile birleştikten sonra yapısı değişen

reseptörlerin çoğu, hedef hücre çekirdeğinin kromatinine bağlanarak, en çok çekirdekte bulunmaktadır (20).

17 $\beta$ -östradiol'ün hücre girişi tam olarak bilinmemekte, basit difüzyonun ya da spesifik alım mekanizmalarının rol oynadığı düşünülmektedir (16). Hücre içinde hormon-reseptör birleşmesi çok hızlı olmaktadır. Bu birleşim hormon-reseptör kompleksinde “aktivasyon” veya “translokasyon” adı verilen değişime yol açmaktadır. Reseptörlerin aktive edişi ile transforme olan kompleks çekirdek içine taşınarak, nükleer kromatine bağlanmaktadır. Yapılan pek çok araştırmaya göre özel haberci ribonükleik asit (mRNA)'lerin üzerinde steroidlerin etkisi DNA'nın ribonükleik asit (RNA)'e çevrilmesi basamağında olmaktadır. Bu etkileşim bilinmeyen bir biçimde mRNA düzeylerini etkilemektedir (16, 20, 21).

17 $\beta$ -östradiol tarafından kontrol edilen proteinlerin sentez hızlarındaki değişim hormon cevabını ortaya çıkarmaktadır. Östrojen reseptörlerinin etkisini sınırlayan en önemli faktör reseptör sayısı olmakta, reseptör sayısı arttıkça ilgili hormona verilen cevap da artmaktadır (21, 22).

17 $\beta$ -östradiol hormonunun vücut sistemleri üzerine olan etkileri aşağıda; ikincil seks karakterleri üzerine etkisi, hipotalamus ve hipofize etkisi, koagülasyon ve fibrinolitik sistem üzerine etkisi, protein sentezi üzerine etkisi, plazma kolesterolü üzerine etkisi, elektrolit dengesi üzerine etkisi, antiinsülin etkisi, deriye etkisi, kemiklere etkisi başlıkları altında, ağız içine olan etkileri ise diş hekimliği ile ilişkisi şeklinde sınıflandırılmıştır.

### **17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun İkincil Seks Karakterleri Üzerine Etkisi**

Östrojen hormonları (E<sub>2</sub>, E<sub>1</sub> ve E<sub>3</sub>), kadında seks organlarının gelişimini, ikincil cinsiyet karakterlerinin meydana gelmesini ve devam etmesini sağlamaktadır (23).

Ergenlikten sonra, ön hipofizin gonadotrop hormonları etkisi ile salınan östrojenler çocukluk döneminde salınanın yaklaşık 20 katıdır. Bu artışın etkisiyle diş

üreme organları, ergin bir dişinin özelliklerini kazanmaktadır. Ergenliği takip eden birkaç yıl içinde uterus büyür, vajinanın boyutu artar, labium majus ve pubiste yağ dokusu toplanır. Östrojen hormonu etkisi ile vajina epitelinin kübik yapısının çok katlı yassı epitele dönüşmesi, vajinanın enfeksiyonlara karşı direnç kazanmasını sağlamaktadır (23, 9). Östrojen hormonları, fallop tüplerinin mukoza katmanında da uterus endometriumuna benzer etkiler göstermektedir. Hormon etkisi ile tuba uterinaları örten titretilü epitel hücrelerinin gelişmesi, sayılarının artması ve hareketlenmeleri sonucu ergin bir bireyde döllelenmiş yumurtanın uterusu doğru ilerlemesi kolaylaşmaktadır.

Çocukluk döneminde kız ve erkek çocuklarda bulunan ilkel (primordial) memelerde (süt bezleri), ergenlik çağındaki kızlarda, 17β-östradiol hormonunun aşırı salınımına bağlı olarak ciddi değişiklikler meydana gelmektedir. Memelerdeki yağ birikimi, bağ dokusunun artışı, kanalların yaygın bir biçimde gelişmesi ve dolayısı ile memelerin büyümesi ve süt üreten sistemin gelişmesi bu değişikliklerdendir. Puberte döneminde östrojen hormonunun etkisi ile kalça ve uyluklarda yağ toplanması ile karakteristik kadın vücudu oluşumu sağlanmaktadır (23).

17β-östradiol hormonunun ergenlikten sonra kadınlar üzerinde menapoza kadar devam eden etkilerinden birisi menstrüel sıklusa olan etkisidir. Menstrüel sıklusun ilk yarısında endometriyum epitelinde ve stroma hücrelerinde 17β-östradiol'ün etkisi ile mitoz etkinliği ve damarlanma artışı olurken, sıklusun sonunda 17β-östradiol düzeyinin azalması, endometriyumun dökülmesine ve kanamaya neden olmaktadır. Ayrıca üreme dönemindeki bir kadının menstrüel sıklusunun ortasında plazma 17β-östradiol düzeyinin artması, serviksten daha fazla kaygan müköz sıvı salınmasına yol açmaktadır. Bu salgı spermatazonların hareketini kolaylaştırarak döllelenmeye yardımcı olmaktadır (24).

### **17β-Östradiol Hormonunun Hipotalamus ve Hipofize Etkisi:**

Hipotalamus- hipofiz aksı ovülasyonun düzenlenmesi açısından önemlidir. Hipotalamustan salgılanan gonadotropin salgılayıcı hormon (GnRH), hipotalamo-hipofizer portal sistem aracılığı ile hipofiz ön lobuna taşınmaktadır. GnRH etkisi ile

hipofizden salgılanan gonadotropinler olan LH ve FSH overde steroid hormon yapımını ve folikülün olgunlaşmasını kontrol etmektedir (25).

FSH overlerdeki primordiyal foliküllerin büyümesini ve Graaf folikülü olarak gelişmesini sağlamaktadır. Yaklaşık 10-20 kadar olan primordiyal foliküllerden biri baskınlık kazanarak gelişmesini sürdürür ve primer folikül adını almaktadır. Bu folikül boyutuyla orantılı olarak giderek artan miktarda  $17\beta$ -östradiol salgılanmasını sağlamaktadır. Dolaşımdaki  $17\beta$ -östradiol düzeyinin artışı ile de hem diğer primer foliküllerin gelişmesi engellenir hem de hipofiz üzerinde negatif geri bildirim (feedback) etkisi oluşturularak FSH salgılanması azalmaktadır (26).

Endometriyal siklusun ortasına yakın dönemde  $17\beta$ -östradiol düzeyinin yükselmesi, bu kez hipotalamus-hipofiz üzerinde pozitif geri bildirim etkisi yapmaktadır. Sonuçta östrojenin hipotalamus üzerindeki uzun süreli geri bildirim etkisi ile daha fazla GnRH salgılanırken, hipofiz üzerindeki kısa süreli geri bildirim etkisi ile hücreler GnRH'ye daha duyarlı hale gelmektedir (26).

Bu iki uyarı ani dalgalanmaya ve hipofizden LH ve FSH salgılanmasına yol açmaktadır. Artan LH ve FSH etkisi ile Graaf folikülü tam olgunluğa erişir ve pikten yaklaşık 16-24 saat sonra ovülasyon gerçekleşmektedir (26).

Ovülasyon sonrası döllenme meydana gelmemiş ise endometriyuma hormonal destek sağlayan  $17\beta$ -östradiol ve progesteron düzeylerinin azalması ile FSH üretimindeki negatif inhibisyon kalkarak, menstrüel siklus yeniden başlamaktadır (25).

$17\beta$ -östradiol'ün aşırı salınımı ya da dışarıdan alınımı söz konusu olduğunda, hipotalamustan gonadotropin salgılatıcı hormonun ve ön hipofizden gonadotrop hormonlarının salınımı azalmaktadır.  $17\beta$ -östradiol salınımının azalması durumunda ise gonadotrop hormonların salınımı aşırı ölçüde artar ve plazmadaki gonadotropinlerin düzeyi yükselir (25, 26).

### **17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Koagülasyon ve Fibrinolitik Sistem Üzerine Etkisi**

17 $\beta$ -östradiol; Faktör II, VII, IX ve X'un karaciğerde sentezini artırarak koagülasyon üzerinde etkili olmaktadır. Postmenopozal dönemde uygulanan östrojen replasman tedavisi (ÖRT) ile yüksek dozda 17 $\beta$ -östradiol verilmesi, plazminojen aktivatör inhibitör 1 ve antitrombin III'ü modüle edip, adenozin trifosfat (ADP) aracılı agregasyonu inhibe ederek, tromboz artışına yol açmaktadır (27, 28).

### **17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Protein Sentezi Üzerine Etkisi**

17 $\beta$ -östradiol, androjenler kadar olmasa da hücrelerden protein sentezini arttırmaktadır. 17 $\beta$ -östradiol verildiğinde protein oluşumunun kolaylaşp, azot alıkonulmasının artışı, bunların birçok enzimin sentezini ve aktivitesini uyararak protein metabolizması üzerinde anabolik etkisi olduğunu göstermektedir (10, 30).

### **17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Plazma Kolesterolü Üzerine Etkisi**

17 $\beta$ -östradiol'lerin yüksek dansiteli lipoproteinleri (HDL) yükseltip, düşük dansiteli lipoproteinleri (LDL) düşürücü etkileri sayesinde plazma kolesterol düzeyini azaltıcı etkileri vardır (30, 31, 32). Bu nedenle menapoz öncesi dönemde ateroskleroza bağlı koroner damar hastalığı ve enfarktüs kadınlarda aynı yaştaki erkeklere oranla daha düşük seviyede izlenmektedir (32, 33).

### **17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Elektrolit Dengesi Üzerine Etkisi**

Östrojenler aldosteron ve bazı adrenal kabuk hormonları kadar güçlü olmasa da, böbrek tübüllerinde sodyum, potasyum, su ve azot alıkonulmasına neden olmaktadır. Bu etki gebelik döneminde fazla olmakla beraber ovulasyondan hemen önce daha yoğun şekilde gözlenmektedir (8, 34).

### **17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Antiinsülin Etkisi**

Organizmanın hücresel aktiviteleri için gereken en önemli enerji kaynağı olan diyet karbonhidratları; glikoz, galaktoz, fruktoz gibi hekzos polimerlerden

oluşmaktadır (35). Karbonhidrat metabolizmasının regülasyonunda pankreas tarafından sentez edilen insülin ve glukogon hormonları büyük rol oynamaktadır (36).

Pankreasın langerhans adacığı beta hücreleri tarafından sentezlenen insülin hormonu, bir çok dokunun glikoz alınımlı ve sonrasında kullanımından sorumludur. 17 $\beta$ -östradiol hormonu, hücrelerin insüline duyarlılığını azaltarak, glikoz kullanımını yavaşlatmaktadır (36).

### **17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Deriye Etkisi**

Vücut ile dış çevre arasında ara yüzey olarak faaliyet gösteren deri, vücudun pekçok özelliğini yansıtan bir ayna gibidir. Görsel değerlendirme açısından kadın ve erkek arasındaki farklılıklar deriye de yansımaktadır. Her ne kadar kadın ve erkek derisi arasındaki farklılıklarda dış faktörler oldukça önemli olsa da, genetik ve hormonal farklılıkların etkisi de tartışılmaz (37).

17 $\beta$ -östradiol, kadın derisinin erkek derisine oranla daha yumuşak, düzgün, ince ve yağ dokusu miktarının fazla oluşuna bağlı olarak da gergin olmasını sağlamaktadır (38). 17 $\beta$ -östradiol kadın derisinin daha damarlı hale gelmesine neden oldukları için erkeklerinkine göre daha sıcak ve kesildiğinde ise kanamasının daha çok olmasına yol açmaktadır (39).

### **17 $\beta$ -Östradiol Hormonunun Kemiklere Etkisi**

Kemik dokusu, organik ve inorganik maddelerin oluşturduğu ara maddeden (matriks) ve hücrelerden yapılmıştır. 17 $\beta$ -östradiol, kemik matriksinin normal halde kalmasına ve burada kalsiyum iyonlarının çökmesine neden olup kemiklerden kalsiyum salınımlını önlemektedir. Sonuçta artan organik matrikse bağlı olarak yeni kemik oluşumunu kolaylaştır. 17 $\beta$ -östradiol, kemik oluşumunu organizmada kalsiyum ve fosfor iyonlarının alınımlını artırarak da yapmaktadır. Çünkü, östrojen etkisi ile biriken kalsiyum ve fosfor iyonları kemik matriksini arttırmaktadır (8).

Overyal aktivitenin hızla azalması, menstrüel kanamaların kaybolması ve  $17\beta$ -östradiol seviyesinin düşmesi şeklinde tanımlanan menopozun erken ve geç dönem bulgularında östrojen yetmezliği önemli rol oynamaktadır (15) Osteoporoz menopozun geç dönem bulgularından olup, hormon replasman tedavileri ile semptomlar giderilmeye çalışılmaktadır (40, 41).

### **2.1.6. $17\beta$ -Östradiol Hormonunun Diş Hekimliği ile İlişkisi**

Ağız boşluğunda yer alan sert ve yumuşak dokularda östrojen hormon reseptörlerinin tespit edilmesi, bilim adamlarını yaşam boyu vücut fizyolojisi üzerinde önemli yeri olan bu hormonun oral dokulardaki etkilerini araştırmaya sevk etmiştir (21, 41, 42).

Ağız boşluğu, oral müköz membran veya kısaca oral mukoza olarak adlandırılan yapı ile örtülüdür. Bu yapıyı, oral epitel ve altını döşeyen bağ dokusu oluşturmaktadır (43).

Oral mukoza ve vajinal mukoza histolojik olarak benzerdir. Herikisi de strafiye squamöz epitelden oluşup desquamasyon göstermektedir. Bu nedenle vajina gibi oral dokuların da östrojen hormonundan etkileneceği düşünülmüştür (41). Özellikle oral mukozada östrojen reseptörlerinin varlığının tespit edilmesi, bu dokuyu dolaşımdaki östrojen hormonu için hedef yapmıştır (21, 41, 42).

Oral epitel keratinizasyonunun cinsiyetten etkilenmediğini savunan araştırmaların olmasına rağmen (44, 45), kadınlardaki  $17\beta$ -östradiol hormonunun keratinizasyonu etkilediğini tespit eden çalışmalar da vardır (46, 47). Özellikle oral mukozada menstrüel siklus sırasında ve menopoz sonrası dönemde vajinal mukozadakine benzer değişiklikler saptanmıştır (41).

Seko ve diğ. (48),  $17\beta$ -östradiol eksikliğinin mukoza epiteli kalınlığı ve keratinizasyonunu etkileyeceğini rapor etmişlerdir. Ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada, overektomi geçiren ratların mukoza epitel kalınlığı ve keatinizasyonu, sağlıklı olanlara göre daha az çıkmıştır. Bu değişikliğin özellikle dil ucunda daha

belirgin olması, Burning Mouth Sendromu olan bireylerin de dil ucuna ait şikayetlerinin sık olması açısından ilgi çekicidir.  $17\beta$ -östradiol'ün menopozda azalması ile oral epitel maturasyonunda meydana gelen değişiklikler, enflamasyona meyilli atrofik ve ince epitel dokusunun oluşmasına neden olmaktadır (48).

Sonuç olarak epitel hücre proliferasyonu çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinlerin rol oynadığı karmaşık bir durum olsa da, seks steroidleri ile mukoza epitelinde meydana gelen histolojik değişikliklerin gerçekleşmesindeki mekanizmada,  $17\beta$ -östradiol'ün önemli bir faktör olabileceği düşünülmektedir (49).

Dişeti, çenelerin alveoler proseslerini örten ve dişleri kolelerinden saran oral mukozanın uzantısıdır. Dişeti ve dişleri destekleyen diğer dokuları etkileyen iltihabi hastalıklar, periodontal hastalıklar olarak adlandırılmaktadır. Dişeti iltihabı ile başlayan periodontal hastalıklar tedavi edilmediğinde periodontal aralığa ilerleyerek, dişeti ve dişleri destekleyen alveol kemiğinde geriye dönüşsüz hasar oluşturabilir (50). Dişeti hastalığının en önemli nedeni "bakteriyel diş plağı" adı verilen, dişler üzerinde biriken, yapışkan ve renksiz, üzerinde birçok mikroorganizmayı barındıran film tabakası ve bu yapı içinde bulunan mikroorganizmaların toksik maddeleridir (51, 52). Dişeti iltihabını başlatan bu direkt etkiden başka vücudun direncini veya yapısını değiştirerek dişeti hastalıklarının oluşumuna katkıda bulunan pek çok faktör vardır. Bunlar; genetik, stres, sigara kullanımı, kötü beslenme, diş sıkma- diş gıcırdatma, ilaç kullanımı (antiepileptikler, antidepresanlar, antihipertansifler, bazı kalp ve böbrek hastalıkları), diyabet, diğer sistemik hastalıklar (bazı kan hastalıkları, immün sistem hastalıkları, Down Sendromu) olarak sınıflandırılır (53, 54, 55, 56). Tüm bunların yanı sıra hormonların da puberte, mensturasyon, hamilelik ve menopoz gibi yaşam evrelerinde pek çok doku ile birlikte dişeti üzerine de etkisi olduğu tespit edilmiştir (56, 57).

Periodonsiyum üzerine etkisi olan en önemli seks hormonları, östrojen ve progesterondur (58, 59). Östrojen reseptörlerinin dişetinde tespit edilmesi ile östrojen hormonu için dişetin hedef doku olduğu düşünülmüştür (59).  $17\beta$ -östradiol hormonunun periodontal dokular üzerine olan etkilerinden biri polimorfonükleer

lökositler (PMNL) aracılığı ile immün cevabı değiştirmesidir (60, 61).  $17\beta$ -östradiol hormonunun periodontal dokular üzerine olan bir diğer etkisi, epitel glikojenini arttırıp, keratinizasyonunu azaltarak, epitel bariyeri zayıflatmasıdır (59). Spesifik periodontal mikroorganizmaların artışına sebep olarak, diş plağı olmaksızın dişeti inflamasyonunun gelişmesi de östrojen hormonunun etkilerindedir (62, 63, 64).

Puberte döneminde  $17\beta$ -östradiol hormonu miktarındaki farklılıklar, dişetinde klinik ve mikrobiyolojik olarak pek çok değişikliğe yol açmaktadır. Bu dönemde, plak düzeyinde artış olmaksızın dişeti infeksiyonu gelişimini gösteren çalışmalar vardır (65). Puberte döneminde ayrıca subgingival mikrofloradaki *Prevotella intermedia*, *Capnocytophaga*, *black-pigmented Bacteroides* gibi bakteri türlerinin prevalansı artmakta ve dişetinde kanamaya yatkınlık görülmektedir (66).

Kadınlarda dişeti kanamasının artış gösterdiği dönemlerden biri de menstrüel kanama zamanıdır (67). Bu dönemde dişetinde şişlik artmakta, gingival eksuda artışı olmakta ve dişte minör düzeyde mobilite gözlenmektedir (67, 68). Dişeti oluşu sıvısındaki maksimum artış ovulasyondan hemen önce  $17\beta$ -östradiol düzeyinin en yüksek seviyede olduğu zamandır (67). Menstrüel siklusda östrojen seviyesinin azaldığı dönemlerde intraoral herpes lezyonları, rekürrent aftöz ülserler ve kandida infeksiyonları da artış göstermektedir (69, 70, 71).

Hamilelik döneminde de östrojen hormon düzeyinde ciddi değişiklikler olmaktadır (9). Tüm hamile kadınların 30% ile 100%'ünde gözlenen hamilelik gingiviti endokrin sisteme bağlı oral değişikliklerin en sık rastlanılanıdır (72). Fibrovasküler dokunun veya granülasyon dokusunun geniş endotel proliferasyonu ile karakterize olan hiperplazisi, piyojenik granüloma olarak bilinmektedir (73) ve hamilelik döneminde prevalansında 0,2% ile 9,5% arasında artış olmaktadır (74). Hamilelik döneminde vücutta değişen östrojen ve progesteron seviyesinin vasküler yapıya olan etkileri, dokuyu lokal irritasyonlara karşı daha farklı cevap vermeye hazırlar. Böylece piyojenik granüloma ile aynı özellikleri taşıyan ve “gebelik tümörü (angiogranüloma, granüloma gravidorum)” olarak da bilinen hiperplazik değişiklikler gelişebilir. (73) Hamilelikte seks steroid hormonlarının artışı; dişeti

damarlanmasını, subgingival mikroorganizma kolonizasyonunu, periodonsiyumun spesifik hücrelerini ve lokal immün cevabı da değiştirmektedir (75). Hamilelik döneminde östrojen ve progesteronun artışına paralel olarak artan *P intermedia* ve *P gingivalis*, plak olmaksızın gelişen gingivitis ve dişeti kanamasında etkili olmaktadır (71). Dişeti damarlanmasındaki artış östrojen ve progesteron artışına bağlı olarak gelişmekte ve bu da dişetinde ödem, eritem ve dişeti oluşu sıvısı artışına yol açmaktadır (74, 76).

Oral kontraseptifler, ovülasyonu engellemek için hamileliği taklit eden  $17\beta$ -östradiol ve/veya progesteron içeren ajanlar olup, diş hekimliğindeki klinik bulguları da hamileliği taklit etmektedir. Özellikle ilk üretildikleri dönemlerde 20- 30 mg gibi yüksek miktarda  $17\beta$ -östradiol içerdikleri için, periodontal dokular üzerine etkisi daha yoğunken, günümüzde kullanılan dozun yaklaşık 0.05mg/gün olması bu etkileri kısmen azaltmaktadır (77, 78). Oral kontraseptif kullanan kadınların dişeti oluşu sıvısındaki yaklaşık 50%'lik artış ile beraber gingival dokularda abartılı cevaplar ortaya çıkmaktadır. Bu durumun mikrovaskülarizasyon değişimine, dişeti permeabilite artışına ve prostaglandin sentezi artışına bağlı olabileceği düşünülmektedir (79). Ayrıca bu ilaçların içeriğindeki östrojen hormonunun, koagülasyon ve fibrinolitik faktörlerde meydana getirdiği değişiklikler, pıhtı lizisinin oluşmasını etkileyebilmektedir. Bu bireylerin dişeti oluşunda bulunan *bakteroides* türleri ise yaklaşık 16 kat artmaktadır (79).

Kadınların yaşam dönemlerinden biri olan menopoza, genellikle 45- 55 yaşları arasında görülen fizyolojik bir olaydır. Yaşlanmaya bağlı olarak overlerden salınan siklik hormon salgısının azalması ve adet kanamalarının düzeninin bozulması ile başlayan değişiklikler menopoza adı verilen son adet kanaması ile devam etmektedir. Menopozdan 2- 6 yıl öncesi premenopozal dönem, 6- 8 yıl sonrası ise postmenopozal dönem olarak adlandırılmaktadır (11). Periodontitis insidansının generalize osteoporözle ilişkili olduğuna dair araştırmalar mevcuttur (80). Menopoz döneminde görülen en önemli problem olan osteoporözün, alveolar kemik hacminde meydana getirdiği azalma, periodontal hastalıklar sonrası gelişen kemik yıkımını arttırmaktadır (81). Bu dönemde  $17\beta$ -östradiol seviyesindeki düşüş epitelyal keratinizasyonu azaltır

(82). Postmenopozal dönemde dişeti dokusunda anormal solukluk, ya da kırmızılıkla birlikte, probing veya fırçalama sırasında kanama semptomlarının olduğu menopozal gingivostomatitis gelişebilmektedir (83, 84). Postmenopozal dönemdeki diğer oral bulgular ise oral bölgede yanma hissi, kserostomi, kötü tat alma ve tükürük akışında azalmadır (75).

Tükürük bezleri oral kaviteye salgı boşaltan organlar olup majör tükürük bezleri, minör tükürük bezleri ve de aksesuar tükürük bezleri olarak sınıflandırılmaktadır. Minör tükürük bezleri mukoza ya da submukoza içinde bulunup, doğrudan veya kısa kanallar üzerinden salgı yaparlar. Bunlar lingual, labial, bukkal ve palatin bezleri içermektedir. Lokalizasyon olarak oral mukozadan biraz daha uzakta bulunup, ekstrasgladüler kanallarla salgılarını boşaltan majör tükürük bezleri ise parotis, submandibüler ve sublingual bezlerdir. Aksesuar tükürük bezleri yapı olarak majör tükürük bezlerine benzeyip; dilde, palatin tonsil ve çevresinde, yumuşak damakta, sert damağın posterior kısmında, dudaklarda ve yanakta bulunmaktadır (84).

Tükürük kompozisyonunu ve sekresyonunu pek çok hormonun etkilediği bilindiği halde, bunun mekanizması henüz çözülememiştir. Tükürük bezlerinin asinar ve duktal hücrelerinde östrojen reseptörlerinin tespit edilmesi, bunların östrojen hormonuna hassas dokular olduğunu göstermektedir. Toplam tükürüğün sağlıklı bireylerdeki akış miktarı ortalama 1000ml/gün'dür ve tükürük bezlerinden tükürük kompozisyonuna parotis bezinden %20, submandibular bezlerden %65, sublingual bezlerden %7- 8 ve tüm minör bezlerden %10'dan az olacak şekilde katılım olmaktadır (46). Trott (81)'un ratlar üzerinde yaptığı araştırmada submandibular tükürük bezinin parotis bezinden 4 kat daha fazla miktarda östrojen reseptörü içermesi, hormon-reseptör-salgı ilişkisini ortaya koymaktadır (46, 85). Menstrüel siklus, menopoz, hamilelik gibi dönemlerin tükürük kompozisyonu üzerine etkisi olmaktadır. Örneğin menstrüel siklus boyunca tükürük peroksidaz düzeyinde (86) ve Ig A düzeyinde farklılıklara rastlanılmıştır. Benzer olarak hamilelikte tükürüğün inorganik yapısı ve protein kombinasyonu da değişmektedir (87). Hormon replasman

tedavisi sonrasında tükürük akışında meydana gelen değişikliklerin de östrojene bağlı olabileceği düşünülmektedir (88).

Östrojen reseptörleri (ER), pyojenik granülomada, çenelerin periferik dev hücreli lezyonlarında ve pekçok tümörde de gözlenmiştir. (16, 21, 22, 42) Menstrüel aşamada pulpa polibinin sık oluştuğuna dair raporların mevcut olması ve histolojik çalışmalarda pulpa polibi ile piyojenik granülomanın benzerlik göstermesi, pulpada ER'lerinin bulunma olasılığını arttırmıştır. Whitaker ve diğ. (89) pulpa örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmada, östrojen reseptörü ekspresyonuna rastlamamışlardır. Jukie ve diğ. (90) ise immünohistokimyasal çalışmaları sonucunda; pulpa dokusunda odontoblast, endotel hücresi ve schwann hücrelerinde östrojen reseptörlerinin varlığını göstermişlerdir. Ancak literatürde pulpa dokusunda östrojen hormonu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

## 2. 2. PULPA DOKUSU

Diş pulpası (diş özü), embriyolojik hayatın 12- 13. haftalarında “dental papil” in oluşumu ile gelişmeye başlayan; hücreler, esas madde, lifler, sinirler ve kan damarlarının meydana getirdiği aktif bir dokudur (91).

Mezoderm tabakasından geliştiği için vücuttaki diğer bağ dokuları ile benzer özellikler gösteren pulpa dokusu, mikroskopik incelemede kesitsel olarak dört bölgeye ayrılmaktadır. Bu bölgelerden ilki gevşek bağ dokusu içinde, perifere göre daha büyük damar ve sinirlerin bulunduğu “santral bölge”dir. Santral bölgeyi makrofajların, lenfositlerin, plazma hücrelerinin ve çok sayıda fibroblastın bulunduğu “hücreden zengin tabaka” çevrelemektedir.

3. bölge ise “Weil tabakası” veya “subodontoblastik tabaka” da denilen “hücreden fakir tabaka” dır. Kan damarlarının, miyelinsiz sinir liflerinin ve fibroblastların silindirik şeklindeki uzantılarının bulunduğu bu bölgede hücre çok azdır veya nispeten yoktur. 4. bölge ise pulpa dokusunun en dışında yer alan ve odontoblast hücrelerinin gövdelerinin oluşturduğu “odontoblast tabakası”dır (92).

### 2.2.1. Pulpa Dokusunun Hücreleri

Pulpada bulunan başlıca hücre tipleri şunlardır:

- 1- Odontoblastlar
- 2- Fibroblastlar
- 3- Savunma Hücreleri

**Odontoblastlar:** Odontoblastlar, diş gelişimi sırasında ve olgun dişte dentin oluşumundan sorumlu olan, pulpanın yüksek derecede diferansiye hücreleridir. Lokalizasyonlarına göre boyut ve şekilleri değişiklik göstermektedir. Kron bölümünde uzun-silindirik olan odontoblastlar, kök ortasında kısa-silindirik, kökün uç kısmında ise kısa ve az çok kübik şekildedir. Apekte doğru ise odontoblastlar daha da yassılaşıp, fibroblastlara benzer bir görünüm kazanmaktadır (93).

Kalsifiye bir doku olan dentinin sınırında, odontoblastların gövdeleri dizilmiştir. Bunların her birinin stoplazma uzantısı predentini geçip, bir dentin kanalı içine girmektedir. “Tomes lifi” olarak da isimlendirilebilen odontoblast uzantısı, pulpadan gelen interselüler sıvı (dentin lenfi) içinde yüzmektedir (92).

Odontoblastlar orijin ve fonksiyon olarak sinir hücresi değildir. Ancak sinir sonlanmaları ile olan yakın ilişkilerinden dolayı, dentin uzantısının uyarılması, sinir impulsunun başlatılmasında transduser mekanizma sağlamaktadır (93).

Odontoblastlar pulpanın dış ortama en yakın hücreleri oldukları için, iritanlara maruz kalındığında, ilk bunlar etkilenmektedir. Herhangi bir nedenle odontoblast hücresi canlılığını yitirdiğinde, hücreden zengin tabakadan gelen farklılaşmamış mezankim hücreleri yeni odontoblastların yapımını sağlamaktadır (92).

**Fibroblastlar:** Pulpaya bağ dokusu özelliği kazandıran hücrelerden biri olan fibroblastlar, diş pulpasında en çok bulunan hücrelerdir. Fuziform veya yıldızsı

şekiller gösteren fibroblastlar, pulpanın her tarafına yayılmış olsalar da en fazla hücreden zengin tabakada bulunmaktadır (92, 94).

Bunlar vücudun herhangi bir yerindeki bağ dokusu fibroblastları ile aynı özellikleri taşımaktadır. Pulpadaki kollajen yapımı ve kollajen dönüşümünde aktif olarak görev alan fibroblastlar, odontoblastlara göre daha az diferansiyasyon göstermektedir. Yaşla birlikte, pulpa dokusundaki liflerin artıp, hücresel elementlerin azalmasıyla, fibroblast sayısı da azalmakta ve fibröz bir pulpa dokusu oluşmaktadır (92, 93).

***Savunma Hücreleri:*** *Farklılaşmamış mezankim hücreleri* (undifferentiated mesenchymal cells) : Bu hücreler aynı zamanda “rezerv hücreler” olarak da bilinmektedir. Bütün bağ dokularında olduğu gibi pulpada da bulunan bu hücreler gereksinime göre çeşitli hücre tiplerine diferansiye olabilme yeteneğine sahiptirler. Duruma göre fibroblastlara veya odontoblastlara dönüşebildikleri gibi, iltihap esnasında makrofajlara veya odontoklast-dentinoklast gibi rezorpsiyon yapan hücrelere diferansiye olabilmektedirler (92, 95).

***Histiyositler:*** Histiyositler kapillere yakın konumda bulunan ve gerektiğinde fagosit (makrofaj) halini alarak, iltihap bölgesindeki bakteri, yabancı cisim ve ölü hücreleri yok eden hücrelerdir (92, 95).

***Perisitler:*** Günümüzde hala foksiyonları tam olarak bilinmeyen perisitler prekapiller ve metarteriollerin duvarlarında bulunmaktadır. Perisitler adale tipi hücreler olup lokalizasyonlarından dolayı prekapiller bölgede bağ dokusu yapmakla görevli olabilecekleri düşünülmektedir (92).

Pulpada; *lenfosit, plazma hücresi, eozinofil, ameboid hücre ve mast hücresi* gibi hücre tipleri de gösterilmiştir. Patolojik durumlar haricinde pulpa dokusunda yağ hücresi bulunmamaktadır (92, 93, 95).

### **2.2.2. Pulpa Dokusunun Lifleri**

Pulpa dokusunda bulunan lifler, ince ve uzun protein polimerleri olup, kollajen lifler ve retiküler (arjirofil) lifler olmak üzere iki kısma ayrılmaktadır.

Retiküler lifler, pulpada kan damarları ve odontoblastların çevresinde bulunan, esas maddesini kollajenin oluşturduğu küçük çaplı ve gevşek görümlü liflerdir. Bu liflerden dentin yapımı devam ettiği sürece odontoblast tabakasının hemen altında yoğun olarak bulunanlarına “Von Korff Lifleri” denilmektedir.

Kollajen lifleri pulpanın her tarafında bulunmaktadır ve kollajen molekülünü yapan zincirlerin bileşimlerine göre “Tip I, II, III ve IV” olarak adlandırılmaktadır. Tip I kollajen, odontoblastlar tarafından sentez ve sekrete edilirken, fibroblastlar hem Tip I, hem de Tip III kollajen yapımından sorumludurlar (95, 96).

### **2.2.3. Esas Yapı**

Pulpanın esas yapısı, vücudun diğer ana yapılarının bir parçası olup, pulpa dokusu içinde meydana gelen bütün metabolik olayların gerçekleştiği yerdir. Bu yapı hormonların, vitaminlerin ve diğer metabolik maddelerin tesirleri ile birlikte infeksiyonun yayılışını ve hücrel cevapları etkilemektedir.

Vücudun diğer bölgelerindeki bağ dokusuna benzer olarak yapısını; glikoproteinler, asit mukopolisakkaritler ve diğer proteinler meydana getirmektedir. Viskoz bir sıvı olan esas yapı besinlerin ve metabolitlerin kan damarlarından hücrelere taşınmasında ve yıkım ürünlerinin venöz dolaşıma iletilmesinde rol oynamaktadır.

Pulpa infeksiyonunda etkili olan mikroorganizmalar, hyaluronidaz, kondroidin sülfataz ve diğer proteinleri hazırlayarak, ana yapının polimerizasyonunu değiştirmektedir. Bu durum ana yapının, pulpanın sağlığında olduğu kadar, hastalığında da önemini göstermektedir (92, 95).

#### **2.2.4. Pulpa Dokusunun Damarları**

Pulpada çok zengin bir damar ağı vardır. Bu damar ağı, mikrosirkülasyonla dokuya gerekli olan besinleri hücrelere verirken, metabolizma artıklarını toplayarak dışarı atılımını sağlamaktadır. Pulpaya foramen apikaleden birkaç küçük arter ve arteriol girer. Daha sonra bu küçük arterler; arteriollere, meta arteriollere, prekapillere dallanırken, perifere doğru kapiller şeklinde dallanma gösterirler. Kapiller, pulpanın her yerinde bulunsalar da, özellikle odontoblastlara komşu olan bölgede yoğunurlar ve burada kapiller pleksusu oluşturmaktadır (93).

Metabolik artıkları içeren kan, kapiller pleksusundan önce post-kapiller venüllere geçip, sonra da daha geniş venlere iletilir. Toplayıcı venler, kök pulpasına doğru inip, foramen apikaleden dışı terk etmektedir (95).

Arterioller ve venüller hacimsel değişiklikler gösterebilmelerine rağmen, pulpa çevresindeki sert mineralize dokular nedeniyle, pulpanın hacimsel olarak genişleme yeteneği sınırlıdır. Bundan dolayı pulpal kan akımının düzenli olması kritik bir önem taşımaktadır (94).

#### **2.2.5. Pulpa Dokusunun Sinirleri**

Pulpa dokusunda hem motor hem duyu sinirler mevcuttur. Motor sinirler otonom sinir sisteminin sempatik bölümünden gelmektedir. Bu sinirler vasküler boşluğun çapını kontrol ederek, kan hacmini ve pulpa içi basıncı ayarlanmaktadır. Pulpanın duyu sinirleri ise 5. kafa çifti olan N. Trigemini'nin maksiller ve mandibular dallanmalarıdır. Bu küçük dallar foramen apikaleden girip, pulpadaki kan damarları gibi boyutsal farklılıklar göstererek pulpa içinde dağılırlar. Büyük çaptaki sinirler pulpanın santral tabakasında yer alırken, perifere doğru lokalize olan sinir fibrilleri küçülmektedir.

Hücreden zengin tabakadaki sinir fibrilleri, miyelin kınını yitirmeye başlayıp miyelinsiz sinir liflerine dönüşmektedir. Miyelinsiz sinir lifleri, subodontoblastik tabakada çıplak sinir sonlanmalarının bulunduğu zengin bir fibril ağı meydana

getirmektedir. Spesifik ağrı reseptörü olarak fonksiyon gören bu fibriller, odontoblastik tabakaya ilerleyip, dentin tübülleri içinde anastomoz yapmaktadır.

Pulpa dokusu içinde ağrıdan sorumlu olan sinir fibrilleri A- $\delta$  ve C lifleridir. A- $\delta$  küçük çaplı, miyelinli ve daha çok pulpa-dentin birleşiminde lokalize olan fibrillerdir. Bunlar çok düşük ağrı eşiğine sahiptirler ve çok hızlı iletim yaparlar. C fibrilleri miyelinsizdir ve A- $\delta$ ' ya göre oldukça küçük çapa sahiptir. C lifleri ağrı iletimini daha yavaş yapmakla beraber, devamlı zonklayan tarzdaki ağrı iletiminden sorumludur. Tüm pulpada yaygın bir biçimde bulunup, çoğunlukla doku yaralanması ile aktif olmaktadır (97).

### 2.2.6. Pulpa Dokusunun Fonksiyonları

Tüm gevşek bağ dokularında olduğu gibi diş pulpası da; formatif (dentin yapıcı), nutritif (besleyici), nervöz (sinirsel) ve defansif (koruyucu) olmak üzere dört temel fonksiyona sahiptir.

**Pulpa dokusunun dentin yapıcı görevi:** Dentin yapımı, diş canlılığını koruduğu süre boyunca devam etmektedir. Erken diş gelişiminde primer dentinogenezis genelde hızlıdır. Odontoblastlar az sayıda olup, düzenli olarak yerleştikleri için primer dentinin kanallı bir yapısı vardır. Zamanla dişin sürmesi ve üzerine fizyolojik kuvvetlerin gelmesi ile dalgalı bir yapıya sahip, birim hacminde daha az kanal içeren, fonksiyonel veya sekonder dentin olarak da adlandırılan dentin oluşumu gerçekleşmektedir (98).

**Pulpa dokusunun besleyici görevi:** Diş pulpası, dentin sıvısının kaynağı olduğu kadar, odontoblastlara oksijen ve besin sağlayarak, dentinin canlılığını ve devamlılığını da korumaktadır. Bu fonksiyonunun en iyi şekilde gerçekleşebilmesi için zengin periferik kapillerin sıkı çalışması ve odontoblastlar arasına çok sayıda uzantı göndermesi gerekmektedir. Bu yüzden dentine komşu odontoblastik tabakadaki ve hücreden zengin tabakadaki hücre topluluğunun fonksiyonel isteklerini karşılamak üzere, subodontoblastik alanda daha fazla sayıda kapiller mevcuttur (99, 100).

**Pulpa dokusunun sinirsel işlevi:** Diş pulpasının canlılığını sürdürebilmesi, ortamdaki zararlı değişiklikleri tanıyarak yanıt vermesi ve bunlara uyum gösterebilmesi için sinir kaynağına ihtiyacı vardır.

Otonom sinir sisteminin sempatik bölümünden gelen vazomotor innervasyon ile pulpa içi kan damarlarının vazodilatasyon veya vazokonstrüksiyonu kontrol edilir. Böylece pulpa dokusunun canlılığını sürdürebilmesi için gereken kan hacmi ve kan akım hızı ile beraber kapiller ile doku arasındaki sıvı alışverişi düzenlenmiş olur.

Diş için zararlı iritanların tanınması ve koruyucu fonksiyonların devreye girebilmesinde ağrı önemlidir çünkü eşik değerin üzerindeki tüm uyarılar sadece ağrı olarak algılanmaktadır. Pulpada ağrı hissedilmesi ile ilgili “dentin innervasyonu”, “hidrodinamik mekanizma” ve “dentinoblastik yaralanma” şeklinde üç hipotez bulunmasına karşı, ağrının oluşumu ve ağrı algılanmasının mekanizması henüz çözülememiştir (92, 99).

**Pulpa dokusunun savunma görevi:** Odontoblast uzantılarının dentin kanalları içine uzanması nedeni ile odontoblastlar dış etkenlere diğer pulpa hücrelerinden daha fazla cevap vermektedir. Odontoblastlar tahriş edildiği veya yaralandığı zaman, pulpadental kompleksin bir veya daha fazla savunma fonksiyonu yaptığı görülmektedir. Bunlar; “tubular sclerosis” (dentin kanallarında skleroz), “reperative” (tamir) dentin oluşumu ve alttaki bağ dokusunun iltihabıdır (96).

“Tubular Sclerosis” orta derecede tahriş yapan çürükler, kavite preparasyonu esnasında hafif akut yaralanma, abrazyon, atrizyon ve yaş değişiklikleri gibi etkenlere cevap olarak gelişmektedir. “Tubular sclerosis” dentin kanalları içinde kalsifikasyon, peritübüler dentin oluşumunun artması, dejenere olan odontoblast uzantıları içerisinde veya çevresinde kalsiyum tuzlarının birikmesi ile dentin kanallarının tıkanmasıdır (96).

Pulpal yaralanma sonucu vasküler yapının zayıfladığı, kan akımının geçici olarak bozulduğu durumlarda odontoblast hücreleri diferansiye olarak atipik dentin oluşumunu sağlamaktadır. Yeni diferansiye olan bu hücreler odontoblastların inhibitör regülasyonuna sahip olmadıkları için, kontrol dışı fonksiyon göstermektedirler. Sonuçta atipik bir oluşum olan iritasyon dentininin yapımı pulpanın neredeyse tamamen obliterasyonuna kadar devam edebilir (92).

### 2. 3. Pulpa Dokusunun Patolojileri

Pulpa dokusu vücudun diğer bölgelerinde bulunan bağ dokusu ile benzerlik gösterse de aşağıdaki faktörler bu dokunun iritasyonlara karşı cevabını değiştirmektedir:

- Pulpa dokusu iritasyon sonucu meydana gelen ödemi tolere edebilmesini sınırlayan sert dentin dokusu ile çevrilidir.
- Pulpa dokusu bakteriler, nekrotik doku ve inflamasyonla başa çıkmasını sağlayacak kollateral sirkülasyondan yoksundur.
- Pulpa dokusu diğer bağ dokularından farklı olarak odontoblast hücrelerine sahiptir. Bu hücrelerin pulpayı iritasyonlardan korumak için diferansiye olarak dentin yapma özellikleri vardır (92, 95, 96).

Pulpal hasar sonucu, iyileşme kapasitesi az da olsa vardır ancak bunun derecesi şüphelidir. Pulpal patolojiye neden olan iritanlara karşı pulpanın cevabı 2 şekilde olmaktadır:

1. İritasyon Dentini
2. İnflamasyon

**İritasyon Dentini:** Diş maturasyonunu tamamladıktan sonra aşırı çevresel uyaran karşısında, pulpa canlılığını koruduğu sürece, hızlı dentin yapımı olmaktadır. Odontoblastların yaralanmasını, yeni odontoblastların diferansiyasyonu izlemektedir. Bunu stoplazmik granüllerin sentezi takip eder. Kollajen fibrilleri oluşumu ile devam

eden bu süreç mineral tuzların çökmesi ile sonlanır. Atipik olan bu oluşum “tersiyer”, “reperatif”, “irregüler”, “defansif” veya “irritasyon” dentini olarak adlandırılmaktadır (92, 93, 98).

Orta derecede odontoblast yaralanması dentin kanallarında sklerozis veya tamir dentini yaparken, daha uzun süreli veya şiddetli irritasyon odontoblast çekirdeği ve plazma membranında irreversible etki yaparak alttaki bağ dokusunda iltihap başlatabilir. Pulpada iltihap başladığı zaman dış etken kısa sürede ortadan kalkarsa geri dönüş olabilir. Ancak dirençli ve çok fazla miktarda irritan varlığında spesifik ve nonspesifik immünolojik reaksiyonlar pulpa dokusunda geri dönüşümü olmayan hasarlara yol açabilmektedir (101).

**İnflamasyon:** Çeşitli irritanlarla hücre ve dokularda meydana gelen zarar sonrası oluşan atıkları ve buna neden olan etkeni yok etmek, vücuttan uzaklaştırmak, sonunda da o bölgede görülen doku kaybını onarmak için gelişen bir dizi reaksiyonun tümüne inflamasyon denilmektedir (102).

İnflamasyonun derecesi, doku hasarının yoğunluğu ve şiddeti ile orantılıdır. Konakçı cevabına ve olumsuzluğun süresine ve şiddetine bağlı olarak pulpa dokusu reversible pulpitisten irreversible pulpitis ve daha sonra da total pulpa nekrozuna uzayan patolojik değişimler geçirmektedir.

Pulpa patolojilerinin farklı başlıklar altında toplandığı pek çok sınıflandırma mevcuttur ancak iltihapsal reaksiyonların patogenezi temelde benzerdir. İrritasyona neden olan etkenlerin şiddeti, devamlılığı ve de konağın bunlara cevap yeteneği, pulpa hastalıklarının çeşitliliğine neden olmaktadır (103, 104).

Torabinejad’a göre pulpa hastalıkları;

- a) Reversible pulpitis
- b) İrreversible pulpitis
- c) Hiperplastik pulpitis
- d) Nekroz olarak sınıflandırılmaktadır (105).

### 2.3.1. İrreversible Pulpitisin Etiyolojisi

İrreversible pulpitis, iltihap mediyatörlerinin ve nöropeptitlerin etkisi ile seröz, süpüratif veya ara bir evre şeklinde gelişen, pulpa bağ dokusunun iritanlara karşı klinik olarak gözlenen cevabıdır (105).

Pulpa dokusunda patolojik değişimlere neden olan iritanlar canlı ve cansız olarak iki gruba ayrılmaktadır. Canlı iritanlar çeşitli mikroorganizmalar ve virüslerin meydana getirdiği mikrobiyal etkenlerdir. Cansız iritanlar ise mekanik ve kimyasal etkenler şeklinde sınıflandırılmaktadır.

**Mikrobiyal iritanlar:** Diş çürüklerinde var olan mikroorganizmalar pulpa ve periradiküler bölgedeki iritanların en önemlileridir. Odontojenik infeksiyon bakterileri; plakta, mukoza yüzeylerinde, gingival sulkusta bulunup normalde oral florayı oluşturan bakterilerdir. Dentin ve mine çürüğü sonrasında, bu mikrobiyal ajanların ve ürettikleri toksinlerin dentin tübülleri vasıtası ile pulpaya iletilmesi ile pulpal infeksiyonun gerçekleşmesi, en sık karşılaşılan pulpa hastalığıdır. Birçok araştırmacı pulpal ve periradiküler patolojilerin bakteriyel kontaminasyon olmaksızın gelişemeyeceğini savunmaktadır (106).

Pulpal hastalıkların etyolojisinde aerobik bakteriler içinde en çok streptokoklar etkili olmakta bunu stafilokoklar, neisseria ve corynobakterium izlemektedir. Anaerobik bakteri türleri daha çok çeşide sahiptir. Ancak, ortama hakim olan iki ana tür vardır. Bunlardan anaerobik gram (+) koklar, anaerobik infeksiyonların 1/3 ünden sorumludur. Streptokoklar, peptokoklar ve peptostreptokoklar bu gruba dahildir. Diğer anaerob bakteri türleri ise infeksiyonların yaklaşık %15'inden sorumlu olan gram (+) çubuklardır ve çoğunlukla eubacterium ve laktobasillerden oluşmaktadır. Gram (-) anaerobik çubuklar ise infeksiyonların yarısında izole edilmekte olup, bakteroides ve fuso bacterium bu gruba dahildir. Karışık tabiattaki bakteriler derin dokulara yerleştikten sonra yüksek virülanstaki organizmalar (aerobik streptokoklar) iltihap olayını başlatmaktadır. Bunu anaerobik bakterilerin faaliyetleri izler. Dokuda oksijen alışverişindeki azalmaya bağlı olarak,

(bu azalma başlangıçta aerobik organizmaların büyümesine, gelişmesine bağlı olarak ortaya çıkar) zamanla ortama anaerobik bakteriler hakim olmaktadır. İnflamasyonun ilerlemiş hallerinde gözlenen cerahatli erime ve apse döneminde ise tamamen anaerobik bakteri hakimiyeti vardır. Erken dönem iltihapları aerobik streptokok infeksiyonları olarak bilinirken, kronik apselerde olduğu gibi geç dönem infeksiyonları ise anaerobik infeksiyonlar olarak tanınmaktadır (101, 106).

**Mekanik irritanlar:** Pulpa dokusunun mekanik irritanları; derin kavite preperasyonları, uygun soğutma kullanılmadan çalışılması, çarpma ile oluşan travma, oklüzal travma, derin periodontal küretaj ve dişlerin ortodontik hareketleri gibi termal ve fiziksel uyaranlardır (107).

**Kimyasal irritanlar:** Pulpanın kimyasal irritanları; çeşitli dentin temizleyicileri, dezenfektanlar, duyarlılığı azaltan ajanlar ile geçici ve daimi dolgu materyalleridir (107).

### 2.3.2. İrreversible Pulpitisin Patogenezi

Pulpal inflamasyon, pulpa dokusunun innervasyonunu sağlayan sinir sistemi ile vasküler yapı arasında gerçekleşen karmaşık bir durumdur. Pulpada bulunan duyu sinirleri olan A-delta ve özellikle C lifleri, trigeminal sinir hücrelerinin gövdesinde üretilen ve akson boyunca ilerleyip, sinir uçlarında depo edilen ve uyarı varlığında salınan pek çok nöropeptit içermektedir (108).

Nöropeptitler; pulpa dokusundaki kan akış hızını, kan basıncını ve inflamasyonun ileri basamaklarını kontrol eden kimyasallardır (109). Nörojenik inflamasyonda en sık görülen nöropeptitler; kalsitonin gene-related peptit (CGRP), substant P, nörokinin A (NK-A), nöropeptit Y (NY) ve vazoaaktif intestinal peptit (VIP)'tir (110, 111).

İrritan maddelerin uyarısına bağlı olarak sinir uçlarından salınan nöropeptitler aracılığı ile çeşitli inflamatuvar mediyatörlerin ekspresyonu gerçekleşmektedir (102). Mediyatör, iltihabın gelişmesinde ve devamında, plazma veya hücrelerden köken

alan ve hedef hücrelerdeki spesifik reseptörlere bağlanarak biyolojik aktiviteleri başlatan, kimyasal maddelerdir. Prostaglandinler, lökotrienler, sitokinler, serbest oksijen radikalleri, vazoaktif aminler ve nitrik oksitler pulpal inflamasyon sırasında en sık karşılaşılan mediyatörlerdir (103, 112, 113, 114) .

İnflamatuvar mediyatörlerin etkisi ile meydana gelen vazodilatasyon sonucu damar çeperindeki ozmotik ve hidrostatik basıncın değişimi, permeabilite artışına yol açmaktadır. Meydana gelen bölgesel hiperemi sırasında, pulpa kan damarlarının uzun süreli dilatasyonu, vasküler geçirgenliğin ve kapiller basıncın artışına neden olup, sıvı eksudasyonu ve hücre eksudasyonu ile dokuda değişiklikler meydana getirmektedir (115).

Sıvı ve hücre eksudasyonu, damardaki plazma içinde belli bir düzene göre akan kan elemanlarının akış şeklinin değişimi ile başlamaktadır. Normalde kan elemanlarının plazma içindeki akışı; en büyük hücreler olan lökositler ortada, eritrositler bunun dışında, trombositler ise damar endoteline yakın bölgede olacak şekildedir. Herhangi bir patojen doku içine girdiği zaman, lokal makrofajlardan İnterlökin-1 (IL-1) ve tümör nekroz faktörü (TNF)'nün salınımına neden olmaktadır. Bu sitokinlerin endoteli uyarılmasıyla, endotelden yeni sitokinlerin salınımı gerçekleşmektedir (114) . Endotelden salınan IL-6, IL-8 ve PAF (Platelet Activating Factor) gibi sitokinler, lökositlerin damar duvarına doğru göç etmelerine sebep olmaktadır (115, 116). Artan hidrostatik basınç ve permeabilite nedeni ile plazma damar dışına çıkmakta ve lökositler endotele yapışmaktadır. Çeşitli mediyatörlerin de etkisi ile damar endoteline yapışan bu lökositler, endotel hücresi üzerinde kayarak iki endotel hücresi arasına psödopod uzatıp, aktif amöboid hareketle damar dışına çıkmaktadır. Lökosit göçü ile birlikte nötrofil lökositlerin, monositlerin, makrofajların ve lenfositlerin inflamasyona katılımını, diğer hücrelerin peşinden sürüklenerek damar dışına çıkan eritrositler izlemektedir (117).

İnflamasyon bölgesinde kapiller permeabilite artışı sonucu kemotaktik maddelerin de etkisi ile zedelene bölgede lökositler ve plazma sıvısı toplanmaktadır. Hasar gören alanda meydana gelen eksuda ve büyük bir kısmı

plazma olan sıvı içinde; nekrotik hücre artıkları, fibrinojen, fibrin, opsonin, kompleman ve immünglobülinler bulunmaktadır. Polimorfonükleer lökositlerin birkaç gün içinde proteolize uğrayarak parçalanması ile pü-apse odakları oluşmaktadır. Venüllerin ve lenfatiklerin, meydana gelen eksudayı ortadan kaldıramaması sonucu artan doku basıncı, lokal mikrosirkülasyonu etkilemektedir. Engellenmiş sirkülasyon, bölgede enfekte enzimlerin ve kemotaktik faktörlerin akümüülasyonu ile iltihap mediyatörlerinin artışına neden olmaktadır (117).

Pulpa dokusunda seröz, süpüratif veya ara evre şeklinde seyreden bu histopatolojik değişikliklerle beraber, eksuda ve mediyatörlerin de etkisi ile pulpa içi basıncın yüksekliğine ve periferal duyu reseptörlerine bağlı olarak, hafif tolere edilebilir bir rahatsızlıktan şiddetli, ızdırap verici zonklamalara kadar değişen ağrı hissi oluşmaktadır (118).

### **2.3.3. İrreversible Pulpitisin Teşhisi**

İrreversible pulpitiste intrapulpal basıncın pü'ye bağlı artışı ve kan damarlarında meydana gelen hemoraji sonucunda periferal ağrı reseptörlerinin eşik sınırının düşmesi ile spontan ağrı oluşmakta ya da uyarılarla gelişen ağrı uzun süre devam etmektedir (118).

İrreversible pulpitiste dişte perküsyon duyarlılığı oluşmadıkça lokalizasyon güçlüğü çekilmektedir. Bunun nedeni pulpada sadece ağrı reseptörlerinin bulunmasıdır. İlgili diş iltihabın sınırlı olduğu ve periapikal bölgede genişleme göstermediği aşamada perküsyon ve palpasyon muayenesine normal sınırlarda tepki vermektedir. Hasta her ne kadar rahatsızlık duyduğu bölgeyi saptayabilse de sorunlu dişi gösteremez. İltihabın basınç reseptörlerinin bulunduğu periodontal ligamente ulaşması ile perküsyon duyarlılığı artmakta ve irreversible pulpitisli dişin lokalizasyonu kolaylaşmaktadır (119).

İrreversible pulpitisli dişin tespitinde radyograflarla ilgili bölgedeki çürük ve restorasyonlar değerlendirilebilirken, periapikal bölge genellikle normal sınırlardadır. Ancak iltihabın ileri evrelerinde periapikal bağ dokusunun etkilenmesi ile periapikal aralıkta hafif bir genişleme tespit edilebilmektedir (120).

İrreversible pulpitisli dişlerde erken dönemde termal testlere verilen cevap reversible pulpitis benzer olup, etken ortadan kalkınca ağrının uzun süre devam etmesi ayırt edicidir. Bununla beraber pulpa iltihabı ilerledikçe sıcak ağrıyı artırır. Daha ileriki evrelerde ise soğuk uygulamanın ağrıyı azaltıcı veya dindirici özelliği olmaktadır (121).

Elektrikli pulpa testlerinde alınan yanıt, iltihaplı olan ve olmayan dişler arasında çok farklı değildir. Ancak iltihabın ilerlemesi ile dokunun daha nekrotik bir hal almasına bağlı olarak yanıt alınması için daha fazla akıma ihtiyaç doğmaktadır. Sonuçta çok köklü dişler ve iltihabın ileri evrelerindeki dişlerde elektrikli pulpa testi tanıda yanılgılara neden olabilmektedir. İrreversible pulpitisin tedavisinde ise kanal tedavisi uygulanmaktadır (119, 121).

Kök kanal tedavisi, kron ve kök pulpasının, yani pulpa dokusunun anestezi altında çıkarılmasını takiben, kök kanallarının mekanik olarak genişletilip, mikroorganizmalardan arındırılmaya çalışılmasından sonra, kök ucuna kadar kanalların doldurulması işlemidir.

Kanal tedavileri ve konservatif tedaviler sırasında kullanılan dental materyallerin ve medikal ajanların içerisinde çeşitli kimyasal maddeler mevcuttur. Bu kimyasalların geliştirilmesinde özellikle pulpa ve çevre dokular için irritasyona yol açıp, açmayacağı öncelikli olarak araştırılan bir faktördür. Bununla beraber vücut sistemleri üzerinde pek çok etkisi olan östrojen hormonunun, pulpa dokusundaki varlığı ve gerçekleşen fizyopatolojik olaylardaki rolü ile ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Amacımız, gelecekte yapılacak olan pulpa-östrojen hormonu ilişkisi ile ilgili araştırmalara bir basamak olması için, pulpa dokusunda  $17\beta$ - östradiol hormonunun varlığını saptamak ve bu hormonun sağlıklı pulpa dokusu ile irreversible pulpitisli pulpa dokusundaki düzeylerini karşılaştırmaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız için Hacettepe Üniversitesi Etik Kurulu'ndan LUT 05/87 kayıt numaralı ve 20.10.2005 tarihli onay alınmıştır.

Çalışma grubumuz, Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Oral Diagnoz ve Radyoloji Anabilim Dalı'na acil muayene ve klinik muayene amacıyla başvuran hastalar arasından seçilmiştir.

Bu çalışmadaki ilk hedef sağlıklı pulpa dokusundaki ve irreversible pulpitisli pulpa dokusundaki 17 $\beta$ -östradiol hormon varlığını saptamaktır. İkinci hedef ise, sağlıklı pulpa dokusu örneklerinden elde edilen verilerin, irreversible pulpitisli pulpa dokusundan elde edilen veriler için kontrol grubu olarak değerlendirilmesidir.

### 3.1. KLİNİK ÇALIŞMALAR

#### 3.1.1. Çalışma Grubunun Seçimi:

##### Sağlıklı Pulpa Grubunun Seçimi

Sağlıklı pulpa grubuna, yaşları 17- 31 arasında değişen 15 kadın hasta ile yaşları 18- 40 arasında değişen 8 erkek olmak üzere toplam 23 hasta dahil edilmiştir. Sağlıklı pulpa grubundaki örneklerin tümü, çekim endikasyonu olan gömülü alt ve üst çene 3. molar dişlerin pulpa dokusundan elde edilmiştir.

Çalışmaya katılan bireylerin aşağıdaki kriterlere uymasına özen gösterilmiştir;

- Hastanın 13- 40 yaş arasında olması,
- Sistemik açıdan sağlıklı olunması, hepatit ve AIDS gibi herhangi bir bulaşıcı hastalığın olmaması,
- İlgili diş gömülü ise foliküler aralığın normal boyutlarda olması, diş çevreleyen herhangi bir patolojinin olmaması,
- İlgili diş sürmüş ise periodontal sorununun olmaması.

## **İrreversible Pulpitisli Pulpa Grubunun Seçimi**

Klinik ve radyografik değerlendirmeler sonucu irreversible pulpitis tanısı konulan, yaşları 13- 40 arasında değişen 25 kadın hasta ve yaşları 13- 39 arasında değişen 8 erkek hasta olmak üzere toplam 33 hasta ile irreversible pulpitisli pulpa grubu oluşturulmuştur.

İrreversible pulpitisli pulpa grubundaki örneklerin tümü, önceden herhangi bir endodontik tedavi uygulanmamış, irreversible pulpitis endikasyonu konulmuş olan alt ve üst çene premolar ve molar dişlerin pulpa dokusundan elde edilmiştir.

Bireylerin seçiminde aşağıdaki kriterler göz önünde bulundurulmuştur;

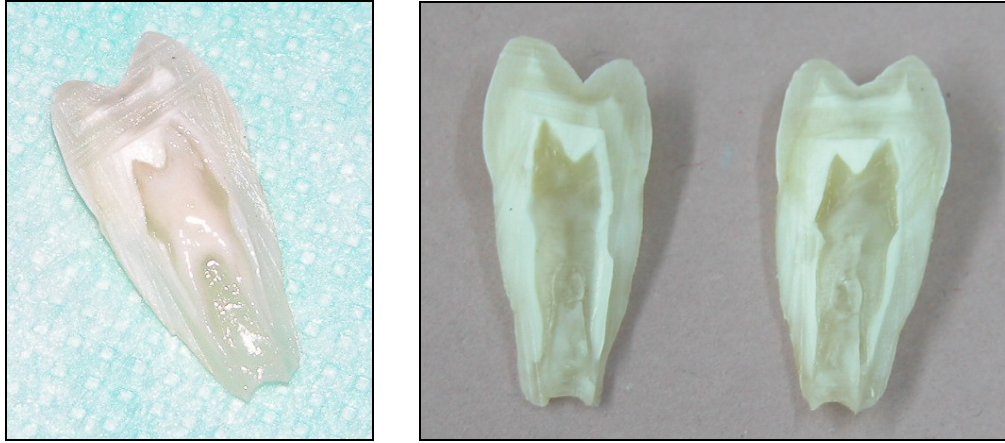
- Hastanın 13- 40 yaş arasında olması,
- Sistemik açıdan sağlıklı olunması, hepatit ve AIDS gibi herhangi bir bulaşıcı hastalığın olmaması,
- İlgili dişte periodontal sorunun olmaması,
- İlgili dişin kanalında, ileri derecede kalsifikasyonun varlığı veya kanalların dilasere olması gibi kanal enstrümantasyonunun iyi yapılamayacağı durumların olmaması.

### **3.1.2. Örneklerin Elde Edilmesi:**

#### **Sağlıklı Pulpa Grubuna Ait Örneklerin Elde Edilmesi**

Sağlıklı pulpa grubuna ait dişler, Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı'ndan elde edilmiştir. Gömülü 20 yaş dişlerinin çekimi, lokal anestezi altında, asepsi ve antisepsi kurallarına uygun olarak yapılmıştır. İlgili bölgelerde mukoperiosteal flep kaldırıldıktan sonra, ront ve/veya fissür frezlerle kemik kaldırılmış, gömülü dişler soketten çıkarılmıştır. Elde edilen avulse dişler, invitro çalışma için serum fizyolojik içerisine konulmuştur. Daha sonra Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Oral Diagnoz ve Radyoloji Anabilim Dalı'nda sağlıklı dişin preperasyonu için uygun olan fiziki şartlar altında aerotöre

fissür ve/veya alev uçlu frez takılarak, diş pulpasına yakın dentin bölgesine kadar kesim yapılmıştır. Kök ve kron pulpası perfore edilmeden preperasyon durdurulmuş ve pulpa dokusuna zarar verilmeyecek şekilde mekanik kuvvet uygulanarak diş iki parçaya ayrılmıştır. Pulpa dokusu steril presel ve/veya H-tipi eğe yardımı ile çıkarılıp, 2 ml serum fizyolojik içeren ependorf tüplerine konulup, Sanyo (MDF-U6086S) marka cihazda  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir ( Şekil 3.1. ).



**Şekil 3. 1. Sağlıklı Diş Pulpası ve Pulpa Odası**

### **İrreversible Pulpitisli Pulpa Grubuna Ait Örneklerin Elde Edilmesi**

İrreversible pulpitisli pulpa grubuna ait dişler Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı'nda ekstirpe edilmiştir. Lokal anestezi altında ilgili dişin giriş kavitesi öncesinde ve sırasında tüm koronal çürüklü dokuları ve/veya restorasyonları uzaklaştırılmıştır. Bu işlemler için ront ve fissür frezler kullanılmıştır. Kök kanallarının ekstirpasyonu öncesinde diş tükürükten izole edilmiş ve H-tipi (hedström) eğe ve tirnerf yardımı ile pulpa çıkarılmıştır. Elde edilen doku, 2ml serum fizyolojik içeren ependorf tüplerinin içine yerleştirilip Sanyo (MDF-U6086S) cihazında  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

## 3.2. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI

### 3.2.1. Pulpa Dokusunun Hazırlanması

Çalışma grubumuzdaki örneklerin laboratuvar çalışmaları, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda ve Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Klinik Patoloji Bölümü'nde yürütülmüştür.

Laboratuvar çalışmalarının örneklerden  $17\beta$ -östradiol hormonu süpernatanı elde edilinceye kadar geçen aşamaları, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir:

**1) Örneklerin tartımı:** Çalışma günü örnekler gruplar halinde  $-80^{\circ}\text{C}$ ' deki Sanyo (MDF- U6086S) marka cihazdan çıkarılıp, laboratuvarda buz üzerinde çözünmeye bırakılmış ve bütün laboratuvar çalışması buz üzerinde ( $0-4^{\circ}\text{C}$ 'de) tamamlanmıştır. Çözünen örnekler tek tek Metler Toledo (AG204) marka elektronik terazi ile tartılıp, sonuçlar mg biriminde kaydedilmiştir.

**2) Subsellüler ayrıştırma:** Herhangi bir organelin işlevini derinliğine araştırabilmek için, öncelikle bunun diğer organellerden arıtılması gerekmektedir. Bu amaçla yapılan olağan işleme subsellüler ayrıştırma denilmektedir. Tartımı yapılan örneklerimizin subsellüler ayrışması özütleme ve santrifügasyon işlemlerini kapsamaktadır.

**Özütleme:** Bir organel veya molekülün yalıtılmasındaki ilk adım, içinde yer alan hücrelerin özütlenmesidir. Organellerin ve pek çok biyomolekülün dayanıksız olması ve biyolojik etkinliklerini kolayca yitirebilmesi nedeni ile  $0-4^{\circ}\text{C}$ 'de, uygun pH ve osmotik basınca sahip sıvı çözelti içinde özütlenmeleri gerekmektedir. Bu işlem için başka bir kimyasal maddenin konsantrasyonundaki değişimi önleyen kimyasal bir sistem olan tampon kullanılmaktadır. Bunun için çalışmamızda, "0,3 % BSA, 1mM EDTA, 0.25M Sukroz ve 30mM Tris-HC" tamponu kullanılmıştır.

Organel veya biyomolekülün hücrelerden özütlenmesi için öncelikle örnek dokunun parçalara ayrılması gerekmektedir. Dokunun parçalanması için el ile ya da elektrikli motor ile çalışan homojenizatör denilen parçalayıcılar kullanılmaktadır.

Çalışmamızda kullanılan dokunun çok küçük olması nedeni ile elektrikli motor ile çalışan homojenizatör için gerekli vasat sağlanamamıştır. Bundan dolayı araştırmamızda el ile homojenizasyon yapılmıştır. Bunun için cam-cam homojenizatör kullanılmıştır. (Şekil 3.2.) Örnek, homojenizatör ile parçalandıktan sonra dokunun içerdiği yapıtaşları tampondaki sukroz içinde serbestleşmiş ve bu işlem sonucu çok sayıda sağlam organel içeren süspansiyon (homojenat) elde edilmiştir. Homojenat, santrifügasyon öncesi +4 °C’de 1 gece inkübe edilmiştir.



**Şekil 3. 2. Cam-Cam Homojenizatör**

**Santrifügasyon (Santrifüj Etme):** Santrifüj etme, santrifügasyon kuvveti yardımı ile bir çözeltinin, bir karışımın veya bir süspansiyonun hafif bileşenlerinin ağır bileşenlerinden ayrılma işlemidir. Santrifügasyon işlemi yapan santrifüj cihazında, iki fazı birbirinden ayırmak için gerekli kuvvetin belirtilmesinde kullanılan terim *göreceli santrifügal kuvvet* (“Relative Centrifugal force”-RCF)’tir ve *göreceli santrifügal alan* olarak da adlandırılmaktadır. Birimi yerçekiminin (gravite) katları ile ifade edilir (550xg gibi). RCF aşağıdaki eşitlikle hesaplanmaktadır:

$$RCF: 1.118 \times 10^{-5} \times r \times rpm^2$$

$1.118 \times 10^{-5}$  = Ampirik bir faktör.

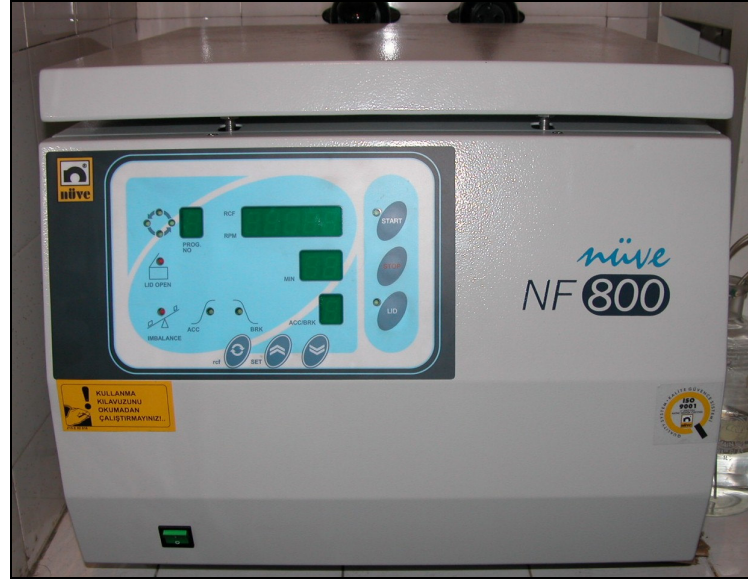
r = Santrifüj çalıştığında dönme eksenini ile tüpün dibini arasındaki uzaklık (dönme yarıçapı)

rpm= Rotorun dönme hızı (dakikada dönme sayısı)

Santrifüjde partikülleri ayırmak için gerekli süre rotorun hızına, rotorun yarıçapına ve partiküllerin sıvı fazda aldığı etkin yol uzunluğuna (sıvı yüzeyinden tüpün dibine olan uzaklığına) bağlıdır. Santrifüjlerde çevirme süresi, çevirme hızına ulaşma anında başlar ve maksimum hızın azalmaya başladığı ana kadar devam etmektedir.

Bir homojenatın içerdiği yapıların santrifügasyon ile alt paylarına ayrılması, biyokimyada çok önemlidir. Klasik yöntemde, her biri bir önceki basamaktan daha yüksek hızda üç farklı santrifügasyon adımı kullanılmakta ve her adımdan sonra bir çökelti (pelet) ve süpernatant elde edilmektedir. Bir basamakta elde edilen süpernatant, bir sonraki basamakta tekrar santrifüj edilmektedir. Bu yöntemle elde edilen üç çökeltiye sırası ile, çekirdek, mitokondri ve mikrozom payları adı verilmektedir. En son elde edilen süpernatant, hücre öz suyuna (sitozol) karşılık gelmektedir. Bu temel yaklaşımda değişiklikler yapılarak, hemen her hücre organelinin, göreceli olarak arıtmak mümkündür.

Çalışmamızda santrifüj tiplerinden Nüve(NF 800) marka sabit-açılı santrifüj (Şekil 3.3.) ile Beckman (L7) marka ultrasantrifüj kullanılmıştır (Şekil 3.4.).



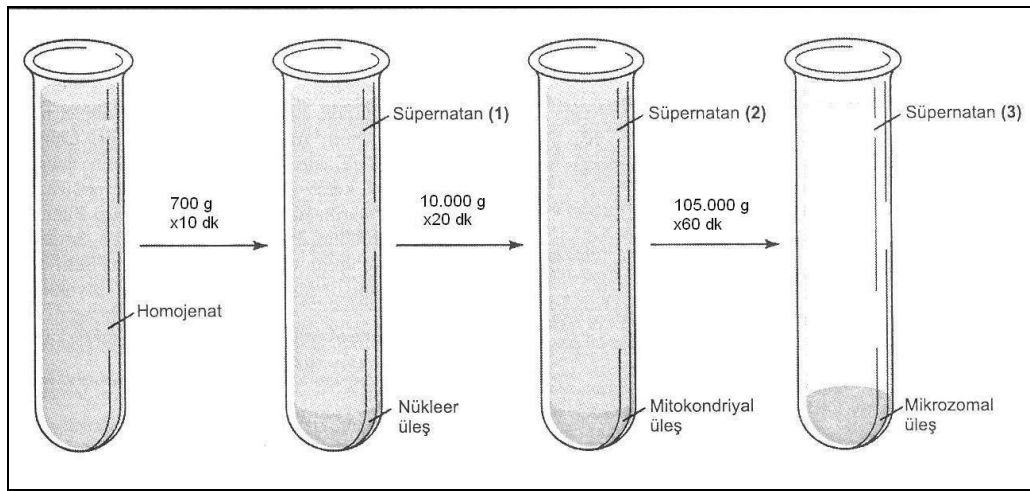
**Şekil 3.3. Nüve(NF 800) Marka Sabit-Açılı Santrifüj**



**Şekil 3.4. Beckman (L7) Marka Ultrasantrifüj**

Homojenatın sabit-açılı santrifüj ile ilk basamakta 700g'de 10dk santrifüjü sonucu, çekirdek payı (nükleer üleş) ve süpernatan elde edilmiştir. Nükleer üleş, çekirdekleri ve de parçalanmamış hücreleri içermektedir. Protein ölçümü için 20 $\mu$ L ayrıldıktan sonra geri kalan süpernatan 10.000g'de 20dk santrifüj edilmiş ve sonuçta mitokondri payı ve süpernatan elde edilmiştir. Mitokondri payı; çökelmiş

mitokondri, lizozom ve peroksizomları bulunmaktadır. Bu basamak sonucunda elde edilen süpernatanın protein ölçümü için tekrar 20 $\mu$ L'si uzaklaştırılmış, geri kalan süpernatın ultrasantrifüj tüplerine aktarılmıştır. Ultrasantrifüjler oldukça yüksek hıza sahip cihazlardır. Çalışmamızda 105.000g'de 1 saat yapılan ultrasantrifügasyon işlemi sonucu serbest ribozomlar ile düz ve pürüklü endoplazmik retikulumun bir karışımı olan mikrozomal üleş ile sitozol veya hücre özsuyuna karşılık gelen berrak bir süpernatın elde edilmiştir. Protein tayini için süpernatandan 20  $\mu$ L ayrılmıştır (Şekil 3.5.).



**Şekil 3. 5. Santrifügasyon Aşamaları**

Örneklerin homojenizasyon bilgileri Tablo 3.1., Tablo 3.2., Tablo 3.3., Tablo 3.4., Tablo 3.5., Tablo 3.6.' da gösterilmiştir.

**3) 17 $\beta$ -Östradiol Ölçümü:** Bu çalışmada dokudaki 17 $\beta$ -östradiol konsantrasyonu kemilüminesans mikropartikül immünölçüm yöntemi ile Abbott Architect cihazında ölçülmüştür (Şekil 3.6.). Antijene özgün antikor ile antijeninin reaksiyonuna dayalı bir analiz olan immünölçüm yönteminde, immünolojik reaksiyonları saptamak için işaretleyici olarak kemilüminesans molekül kullanımı, kemilüminesans mikropartikül immünölçüm yönteminin prensibidir. Kemilüminesans, kimyasal reaksiyon sırasında oluşan ışık yayılımıdır. Bu ışık yayılımı fiziksel bir olay olup, floresansa benzer.

Çalışmamızdaki yöntem tek basamaklı immün ölçüm yöntemidir. Paramanyetik mikropartiküler monoklonal anti-17 $\beta$ -östradiol tavşan antikoru ile süpernatandaki östradiolün anti-östradiol kaplı mikropartiküllere bağlanması sağlanılmıştır. İnkübasyon sonrası akrindinyum esterleri ile işaretli konjugat reaksiyon karışımına eklenmiş ve inkübe edilmiştir. İkinci inkübasyon sonrası bağlı olmayan 17 $\beta$ -östradiol hormonu yıkama ile uzaklaştırılmıştır.

Yıkama sonrası % 1,32 w/v hidrojen peroksit ve 0,35 N sodyum hidroksit eklenmesiyle kemilüminesans reaksiyon gerçekleşmiş ve *relatif light unit* (RLU) olarak ölçülmüştür. RLU ile 17 $\beta$ -östradiol arasında ters orantı mevcuttur.

Architect 17 $\beta$ -östradiol ölçüm metodunun ölçüm için tekrarlanabilirliği düşük kontrol grubu (45 pg/mL) için <5 pg/mL, ortanca kontrol grubu (190 pg/mL) için <7 pg/mL ve yüksek kontrol grubu (600 pg/mL) için < 7 pg/mL'dir. Ölçüm yönteminin analitik duyarlılığı 10 pg/mL'dir. Analitik duyarlılık, metodun ölçebildiği sıfırdan farklı en düşük konsantrasyon değeri olarak tanımlanmaktadır. Ölçüm metodunun 50 ng/mL 17 $\beta$ -östradiol-3 sülfat ile % 0,1 ve 1500 pg/mL östron ile % 0,7 çarpaz reaksiyon verdiği bildirilmiştir. Abbott Architect 17 $\beta$ -östradiol ölçümü izotop dilüsyon gaz kromatografi / kütle spektrofotometresi (ID-GCSM) ile karşılaştırılmış ve korelasyon katsayısı  $r > 0,95$  bulunmuştur. 10-1000 pg/mL arasında slope değeri  $1,00 \pm 0,10$  ve 10-5000 pg/mL arasında  $1,00 \pm 0,15$  olarak saptanmıştır.

Örneklerin 17 $\beta$ -östradiol konsantrasyon bilgileri Tablo 3.1., Tablo 3.2., Tablo 3.3., Tablo 3.4., Tablo 3.5., Tablo 3.6.' da gösterilmiştir.

**4- Protein Ölçümü:** Çalışmanın her aşamasında ayrılmış olan 20'şer  $\mu$ L'lik süpernatandaki protein konsantrasyonu Folin-Ciocalteu (Lowry) yöntemi ile ölçülmüştür. Lowry yöntemi, birçok proteinin tirozin ve triptofan içermesi ve her bir proteinde bu oranın o proteine özgü olmasına dayanmaktadır. Bu aminoasitler serbest veya katlanmamış polipeptit zinciri olarak hangi halde bulunurlarsa bulunsunlar,

fosfotungstik-fosfomolibden asiti (*Folin-Ciocalteu Reagent*) indirgeyerek mavi renk oluşturmaktadırlar. Oluşan bu mavi renk spektrofotometri yöntemi ile ölçülmektedir.

Spektrofotometri seçilmiş dalga boylarındaki ışığın şiddetinin ölçümüdür. Klinik laboratuarda bu amaç için tek-ışınlı spektrofotometreler ve çift-ışınlı spektrofotometreler kullanılmaktadır. Çalışmamızda Shimatzu (UV mini 1240) marka tek-ışınlı spektrofotometre (Şekil 3.7.) kullanılarak santrifüj işlemleri sonrasında ayrılmış olan 20'şer  $\mu\text{L}$ 'lik süpernatandan protein ölçümü yapılmıştır.

Örneklerin protein ölçümü bilgileri Tablo 3.1., Tablo 3.2., Tablo 3.3., Tablo 3.4., Tablo 3.5., Tablo 3.6.' da gösterilmiştir



**Şekil 3. 6. Abbott Architect Cihazı**



**Şekil 3. 7. Shimadzu (UV mini 1240) Marka Tek-Işınlı Spektrofotometre**

### **3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME**

Çalışmamız sonucunda elde edilen veriler Hacettepe Üniversitesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

Grupların karşılaştırılmasında nitelik olan veriler için Ki-kare testi, sayısal verilerin değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi, Mann-Whitney U testi ve İki ortalama arasındaki farkın anlamlılık testi kullanılmıştır.

Tanımlayıcı istatistik olarak sayı, yüzde, ortalama, standart sapma, ortanca, en küçük-en büyük değer kullanılmıştır ve  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

**Tablo 3.1. Grup 1'in Homojenizasyon, Protein, 17 $\beta$ - Östradiol Konsantrasyon Bilgisi**

ÖRNEK	HOMOJENİZASYON BİLGİSİ			PROTEİN BİLGİSİ			17 $\beta$ -ÖSTRADIOL KONSANTRASYON BİLGİSİ			
	mg doku	$\mu$ L	Final V	Pr mg/ml	Final V	Pr 1000 $\mu$ L'de	1000 $\mu$ L'de	E <sub>2</sub> pmol/L	E <sub>2</sub> pmol/mg pr	E <sub>2</sub> fmol/mg pr
1	8,1	500	500	0,0657	500	0,131	56,67	207,97	1,583	1583
2	11,6	1500	1500	0,1825	1500	0,122	73,33	269,13	2,212	2212

**Tablo 3.2. Grup 2'nin Homojenizasyon, Protein, 17 $\beta$ - Östradiol Konsantrasyon Bilgisi**

ÖRNEK	HOMOJENİZASYON BİLGİSİ			PROTEİN BİLGİSİ			17 $\beta$ - ÖSTRADIOL KONSANTRASYON BİLGİSİ			
	mg doku	$\mu$ L	Final V	Pr mg/ml	Final V	Pr 1000 $\mu$ L'de	1000 $\mu$ L'de	E <sub>2</sub> pmol/L	E <sub>2</sub> pmol/mg pr	E <sub>2</sub> fmol/mg pr
3	8,2	180	500	0,0184	500	0,0367	56,67	207,97	5,660	5660
4	4,6	200	500	0,0106	500	0,0141	53,33	195,73	13,885	13885
5	4,9	350	500	0,0201	500	0,0402	50,00	183,50	4,567	4567
6	12,5	500	750	0,0094	750	0,0126	40,00	146,80	11,652	11652
7	10,6	500	750	0,0137	750	0,0137	53,33	195,73	14,310	14310
8	11,3	800	1000	0,0188	1000	0,0375	80,00	293,60	7,822	7822

**Tablo 3.3. Grup 3'ün Homojenizasyon, Protein, 17 $\beta$ - Östradiol Konsantrasyon Bilgisi**

ÖRNEK	HOMOJENİZASYON BİLGİSİ			PROTEİN BİLGİSİ			17 $\beta$ - ÖSTRADİOL KONSANTRASYON BİLGİSİ			
	mg doku	$\mu$ L	Final V	Pr mg/ml	Final V	Pr 1000 $\mu$ L'de	1000 $\mu$ L'de	E <sub>2</sub> pmol/L	E <sub>2</sub> pmol/mg pr	E <sub>2</sub> fmol/mg pr
9	13,7	500	700	0,0219	700	0,0730	63,33	232,42	0,867	867
10	11,2	350	480	0,0237	480	0,0495	13,33	48,93	0,270	270
11	6,4	150	300	0,0238	300	0,0340	80,00	293,60	2,353	2353
12	28,8	500	750	0,0197	750	0,0263	53,33	195,73	2,028	2028
13	22	200	300	0,0239	300	0,0598	13,33	48,93	0,223	223
14	13,2	500	750	0,0159	750	0,0213	33,33	122,33	1,568	1568
15	10,5	400	400	0,0218	400	0,0623	46,67	171,27	0,750	750
16	12,4	250	350	0,0199	350	0,0663	46,67	171,27	0,703	703

**Tablo 3.4. Grup 4'ün Homojenizasyon, Protein, 17 $\beta$ - Östradiol Konsantrasyon Bilgisi**

ÖRNEK	HOMOJENİZASYON BİLGİSİ			PROTEİN BİLGİSİ			17 $\beta$ - ÖSTRADİOL KONSANTRASYON BİLGİSİ			
	mg doku	$\mu$ L	Final V	Pr mg/ml	Final V	Pr 1000 $\mu$ L'de	1000 $\mu$ L'de	E <sub>2</sub> pmol/L	E <sub>2</sub> pmol/mg pr	E <sub>2</sub> fmol/mg pr
17	11,0	500	750	0,0247	750	0,0330	60,00	220,20	6,382	6382
18	4,3	85	400	0,0198	400	0,0495	66,67	244,67	7,091	7091
19	4,5	100	400	0,0251	400	0,0627	53,33	195,73	5,673	5673
20	4,1	60	400	0,0234	400	0,0585	110,00	403,70	11,701	11701
21	12,6	1000	1000	0,0215	1000	0,0215	53,33	195,73	5,673	5673
22	17,5	350	750	0,0240	750	0,0321	36,67	134,57	3,900	3900
23	11,0	300	750	0,0246	750	0,0327	56,67	207,97	6,028	6028
24	10,2	250	500	0,0260	500	0,0521	63,33	232,43	6,737	6737
25	8,5	150	500	0,0240	500	0,0479	40,00	146,80	4,255	4255
26	21,1	200	500	0,0229	500	0,0458	36,67	134,57	3,900	3900
27	4,1	210	500	0,0264	500	0,0527	66,67	244,67	7,091	7091

**Tablo 3.5. Grup 5'in Homojenizasyon, Protein, 17 $\beta$ - Östradiol Konsantrasyon Bilgisi**

ÖRNEK	HOMOJENİZASYON BİLGİSİ			PROTEİN BİLGİSİ			17 $\beta$ - ÖSTRADIOLKONSANTRASYON BİLGİSİ			
	mg doku	$\mu$ L	Final V	Pr mg/ml	Final V	Pr 1000 $\mu$ L'de	1000 $\mu$ L'de	E <sub>2</sub> pmol/L	E <sub>2</sub> pmol/mg pr	E <sub>2</sub> fmol/mg pr
28	15,1	1150	1250	0,0306	1250	0,0245	13,33	48,93	1,997	1997
29	2,5	600	1000	0,0243	1000	0,0194	53,33	195,73	10,079	10079
30	11	750	1000	0,0279	1000	0,0233	13,33	48,93	2,194	2194
31	14	1150	1250	0,0230	1250	0,0184	13,33	48,93	2,665	2665
32	8,1	850	1000	0,0206	1000	0,0165	60,00	220,20	13,384	13384
33	16	1400	1500	0,0285	1500	0,0228	13,33	48,93	2,149	2149
34	12	800	1000	0,0244	1000	0,0195	13,33	48,93	2,503	2503
35	71,3	1500	1500	0,0368	1500	0,0294	13,33	48,93	1,662	1662
36	17,8	1400	1500	0,0255	1500	0,0204	13,33	48,93	2,399	2399
37	15,8	1400	1500	0,0261	1500	0,0209	13,33	48,93	2,346	2346
38	10,5	1200	1500	0,0249	1500	0,0199	13,33	48,93	2,455	2455
39	30,3	1500	1500	0,0327	1500	0,0261	13,33	48,93	1,873	1873

**Tablo 3.6. Grup 6'nın Homojenizasyon, Protein, 17 $\beta$ - Östradiol Konsantrasyon Bilgisi**

ÖRNEK	HOMOJENİZASYON BİLGİSİ			PROTEİN BİLGİSİ			17 $\beta$ - ÖSTRADİOL KONSANTRASYON BİLGİSİ			
	mg doku	$\mu$ L	Final V	Pr mg/ml	Final V	Pr 1000 $\mu$ L'de	1000 $\mu$ L'de	E <sub>2</sub> pmol/L	E <sub>2</sub> pmol/mg pr	E <sub>2</sub> fmol/mg pr
40	15	1250	1500	0,0226	1500	0,0151	43,33	159,03	10,556	10556
41	13,6	1300	1500	0,0193	1500	0,0128	13,33	48,93	2,857	2857
42	18,6	1250	1500	0,0252	1500	0,0168	46,67	171,27	10,202	10202
43	16,3	1400	1500	0,0251	1500	0,0168	53,33	195,73	13,142	13142
44	4,4	75	100	0,0248	100	0,0166	33,33	122,33	10,456	10456
45	11,2	1300	1500	0,0214	1500	0,0142	13,33	48,93	2,578	2578
46	9,3	1000	1250	0,0193	1250	0,0129	66,67	244,67	18,995	18995
47	8,6	1100	1250	0,0239	1250	0,0159	36,67	134,57	8,449	8449
48	10,8	1300	1500	0,0195	1500	0,0130	73,33	269,13	20,681	20681
49	22,7	1250	1500	0,0218	1500	0,0145	26,67	97,87	5,891	5891
50	3,6	900	1000	0,0169	1000	0,0113	23,33	85,63	6,501	6501
51	11,5	800	1000	0,0263	1000	0,0175	40,00	146,80	8,381	8381
52	9	950	1000	0,0243	1000	0,0162	40,00	146,80	9,066	9066
53	16,8	1500	1500	0,0166	1500	0,0111	43,33	159,03	14,337	14337
54	8,2	1100	1250	0,0185	1250	0,0124	53,33	195,73	15,848	15848
55	8,6	800	1000	0,0175	1000	0,0117	50,00	183,50	15,699	15699
56	11,3	1050	1250	0,0205	1250	0,0137	36,67	134,57	12,524	12524

## BULGULAR

Araştırmamızda toplam 56 hastanın dişlerinden ekstirpe edilen sağlıklı pulpa dokusunun (SP) ve irreversible pulpitisli pulpa dokusunun (İPP) meydana getirdiği iki grup değerlendirilmiştir. Bu iki grubun  $17\beta$ -östradiol ( $E_2$ ) düzeyleri ölçülmüş, sonuçlar; cinsiyete göre, dokunun alındığı dişin lokalizasyonuna göre, araştırmada yer alan kadın hastaların menstruasyon fazına göre ve dokunun ekstirpe edildiği dişteki restorasyona göre karşılaştırılmıştır.

Tüm bu değerlendirmelerde kullanılan grupların genel olarak sayı ve yüzde değerleri Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

**Tablo 4. 1. Hastaların Cinsiyet, Menstruasyon Fazı ve Pulpa Dokusunun Tipi, Lokalizasyon ve Restorasyon' a Göre Dağılımı.**

		Sayı	%
Cinsiyet	Erkek	16	28,6
	Kadın	40	71,4
	<b>Toplam</b>	<b>56</b>	<b>100</b>
Doku Tipi	Sağlıklı Pulpa (SP)	23	41,1
	İrreversible Pulpitisli Pulpa (İPP)	33	58,9
	<b>Toplam</b>	<b>56</b>	<b>100,0</b>
Lokalizasyon	Üst Çene	20	35,7
	Alt Çene	36	64,3
	<b>Toplam</b>	<b>56</b>	<b>100,0</b>
Menstruasyon Fazı	Menstruasyon	9	22,5
	Foliküler	12	30,0
	Luteal	19	47,5
	<b>Toplam</b>	<b>40</b>	<b>100,0</b>
Restorasyon	Sağlıklı	23	41,1
	Çürük	25	44,6
	Amalgam Dolgu	0	0
	Kompozit Dolgu	8	14,3
	<b>Toplam</b>	<b>56</b>	<b>100,0</b>

Araştırmaya alınan hasta grubunun yaşları 13-40 arasında olup, yaş ortalaması  $24,11 \pm 7,78$  dir.

SP ve İPP' lı gruplar arasında yaş ( $p=0,593$ ) ve cinsiyet ( $p=0,577$ ) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. SP' lı grubun yaşları 16-40 arasında olup, ortanca yaş değeri 22' dir. İPP' lı grubun yaşları 13-40 arasında ve ortanca yaş değeri 23' tür. Sağlıklı pulpa ve irreversible pulpitisli pulpa grubunun cinsiyete göre dağılımı Tablo 4.2' de gösterilmiştir.

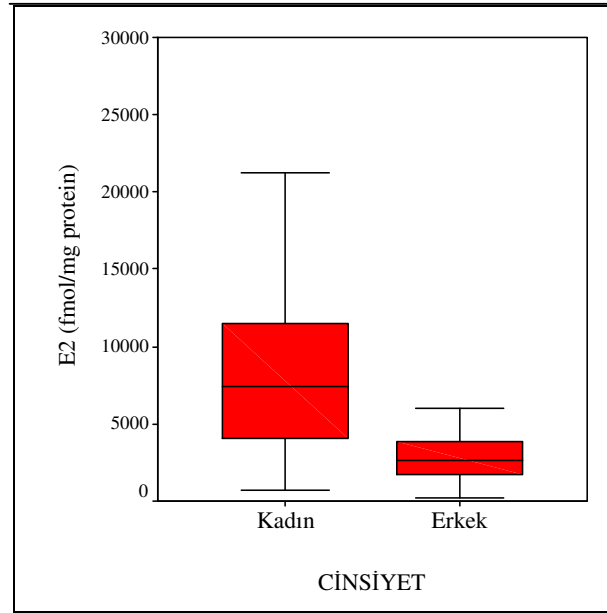
**Tablo 4. 2. Sağlıklı Pulpa ve İrreversible Pulpitisli Pulpa Grubunun Cinsiyete göre Dağılımı.**

Cinsiyet	(SP) n	%	(İPP) n	%	Toplam n	Toplam %	p
Erkek	8	34,8	8	24,2	16	28,6	
Kadın	15	65,2	25	75,8	40	71,4	0,577
<b>Toplam</b>	<b>23</b>	<b>41,1</b>	<b>33</b>	<b>58,9</b>	<b>56</b>	<b>100</b>	

Dokuların elde edildiği erkek ve kadın hastalar arasında  $17\beta$ -östradiol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p<0,001$ ). Buna göre kadınların  $17\beta$ -östradiol düzeyleri erkeklere göre daha yüksektir. Pulpa dokularında ölçülen  $17\beta$ -östradiol düzeylerinin cinsiyete göre tanımlayıcı istatistikleri Tablo 4.3' te, kutu ve çizgi grafiği Şekil 4.1' de verilmiştir.

**Tablo 4. 3. Pulpa Dokularında Ölçülen  $E_2$  Düzeyinin Cinsiyete Göre Dağılımı.**

Cinsiyet	n	Ortanca D.	En küçük- En büyük D.	p
Erkek	16	2659,0	167-5959	
Kadın	40	7456,5	703-23050	0,00

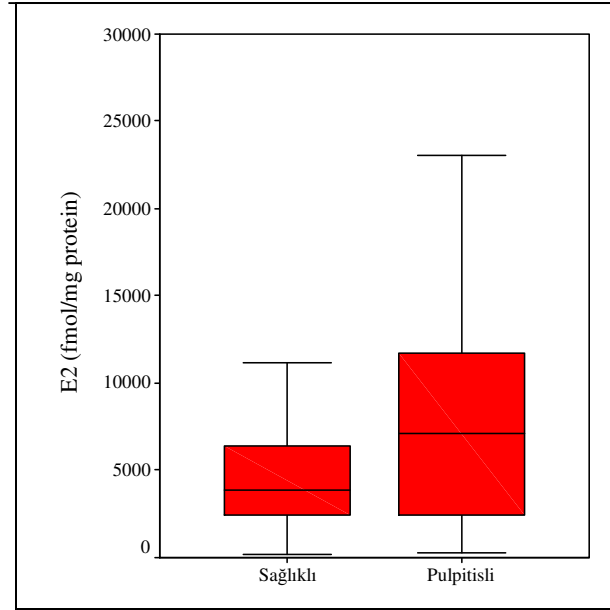


**Şekil 4. 1. Pulpa Dokularında Ölçülen E<sub>2</sub> Düzeyinin Cinsiyete Göre Dağılımı.**

Pulpa dokularında ölçülen 17 $\beta$ -östradiol düzeyleri doku tipine göre incelendiğinde, İPP'lı grubun 17 $\beta$ -östradiol düzeyi SP'ya göre daha yüksek bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,024$ ). Pulpa dokularında ölçülen 17 $\beta$ -östradiol düzeylerinin doku tipine göre tanımlayıcı istatistikleri Tablo 4.4'te, kutu ve çizgi grafiği Şekil 4.2'de verilmiştir.

**Tablo 4. 4. E<sub>2</sub> Düzeyinin Doku Tipine Göre Dağılımı**

Doku Tipi	n	Ortanca D.	En küçük- En büyük D.	P
Sağlıklı P.	23	3900,0	167-11167	0,024
İrreversible P.P.	33	7091,0	270-23050	

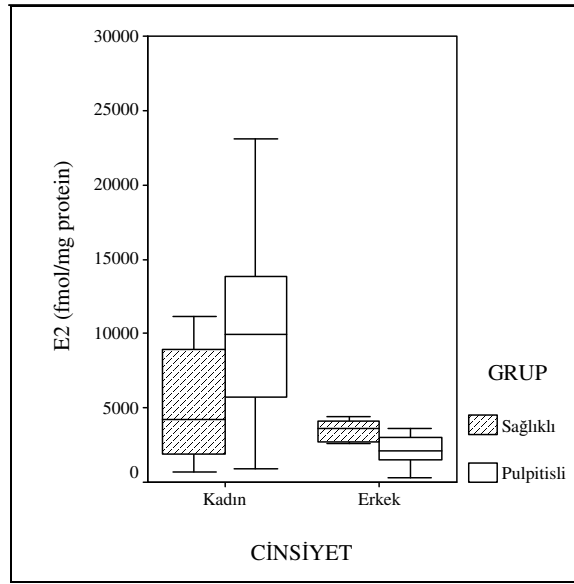


**Şekil 4. 2. E<sub>2</sub> Düzeyinin Doku Tipine Göre Dağılımı**

Pulpa dokularında ölçülen 17 $\beta$ -östradiol düzeyleri cinsiyet ve doku tipine göre incelendiğinde; erkeklerde doku tipine göre 17 $\beta$ -östradiol düzeyleri arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmazken ( $p=0,161$ ), kadınlarda İPP'lı grupta 17 $\beta$ -östradiol değerleri ( $10412,3 \pm 6060,2$ ), SP'lı gruba ( $5407,0 \pm 3743,62$ ) göre daha yüksek bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,007$ ). Pulpa dokularında ölçülen 17 $\beta$ -östradiol düzeylerinin cinsiyet ve doku türüne göre tanımlayıcı istatistikleri Tablo 4. 5'te, kutu ve çizgi grafiği Şekil 4. 3'de verilmiştir.

**Tablo 4. 5. E<sub>2</sub> Düzeyinin Cinsiyet ve Doku Tipine Göre Dağılımı**

Cinsiyet	E <sub>2</sub>	N	Ortalama	Standart Sapma	Ortanca	En küçük-En büyük D.	P
Erkek	Sağlıklı P.	8	3177,25	1385,31	3624,5	167-4388	0,161
	İrreversible P.P.	8	2436,5	1712,23	2072,5	270-5959	
Kadın	Sağlıklı P.	15	5407,0	3743,62	4255,0	703-11167	0,007
	İrreversible P.P.	25	10412,3	6060,2	9912,0	867-23050	

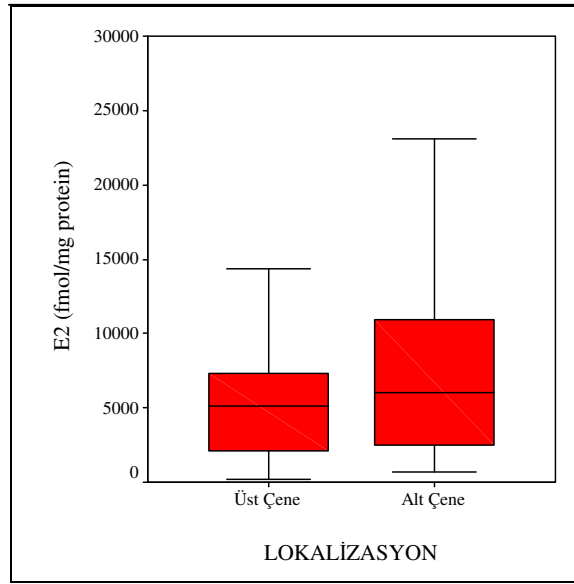


**Şekil 4. 3. E<sub>2</sub> Düzeyinin Cinsiyet ve Doku Tipine Göre Dağılımı.**

Çalışmamızda örneklerin elde edildiği dişlerin alt ve üst çenede lokalizasyonlarına göre 17 $\beta$ -östradiol düzeyleri açısından farklılık bulunmamıştır (p=0,442). Pulpa dokularında ölçülen 17 $\beta$ -östradiol düzeyinin lokalizasyona göre tanımlayıcı istatistikleri tablo 4.6'da, kutu ve çizgi grafiği Şekil 4.4'de verilmiştir.

**Tablo 4. 6 E<sub>2</sub> Düzeyinin Lokalizasyona Göre Dağılımı.**

Lokalizasyon	n	Ortanca D.	En küçük- En büyük D.	P
Üst Çene	20	5113,5	167-21277	0,442
Alt Çene	36	6027,5	703-23050	



**Şekil 4. 4 E<sub>2</sub> Düzeyinin Lokalizasyona Göre Dağılımı.**

Pulpa dokularında ölçülen 17 $\beta$ -östradiol düzeyleri cinsiyete ve lokalizasyona göre incelendiğinde; erkeklerde üst çene ve alt çene lokalizasyon grupları arasında 17 $\beta$ -östradiol düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Kadınlar da da aynı şekilde lokalizasyona göre 17 $\beta$ -östradiol açısından farklılık bulunmamıştır ( $p=0,233$ ). Pulpa dokularında ölçülen 17 $\beta$ -östradiol düzeylerinin cinsiyet ve lokalizasyona göre tanımlayıcı istatistikleri Tablo 4.7’de verilmiştir.

**Tablo 4. 7 E<sub>2</sub> Düzeyinin Cinsiyet ve Lokalizasyona Göre Dağılımı.**

Cinsiyet	Lokalizasyon	n	Ortanca	En küçük- En büyük D.	p
Erkek	Üst Çene	5	1799,0	167-5959	0,583
	Alt Çene	11	2710,0	1405-4388	
Kadın	Üst Çene	15	5673,0	1568-21277	0,233
	Alt Çene	25	9653,0	703-23050	

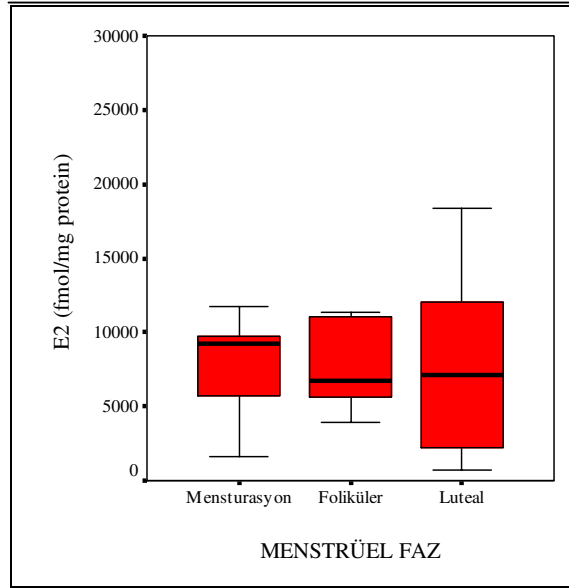
Araştırmamızda kadın hastaların menstrüel fazlarına göre  $17\beta$ -östradiol düzeyleri değerlendirildiğinde menstruasyon, foliküler ve luteal fazdaki grupların arasında  $17\beta$ -östradiol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ( $p=0,795$ ). Pulpa dokularında ölçülen  $17\beta$ -östradiol düzeylerinin menstrüel faza göre tanımlayıcı istatistikleri Tablo 4.8’de, kutu ve çizgi grafiği Şekil 4.5’de verilmiştir.

İPP dokusunun ekstirpe edildiği hasta grubunda menstruasyon fazına göre gruplar arasında  $17\beta$ -östradiol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ( $p=0.864$ ). İPP’ye göre menstrüel fazın  $17\beta$ -östradiol değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri yine Tablo 4.8’ de gösterilmiştir.

SP dokusunun ekstirpe edildiği hasta grubunun yalnız  $n=4$  kişi menstruasyon ve  $n=3$  kişi foliküler fazdadır. Bu gruptaki örneklerin sayısının istatistiksel olarak yeterli olmamasından dolayı, analiz yapılamamıştır.

**Tablo 4. 8. E<sub>2</sub> Düzeyinin Menstrüel Faza Göre Dağılımı.**

Grup	Menstruasyon Fazı	n	Ortanca	En küçük- En büyük D.	p
SP + İPP	Menstruasyon	9	6845,0	1583-23050	0,795
	Foliküler Faz	12	5607,5	3900-21277	
	Luteal Faz	19	5086,0	703-23050	
İPP	Menstruasyon	5	5703,0	1583-9722	0,864
	Foliküler Faz	9	6028,0	3900-10673	
	Luteal Faz	11	4077,5	703-11167	



**Şekil 4. 5. E<sub>2</sub> Düzeyinin Menstrüel Faza Göre Dağılımı.**

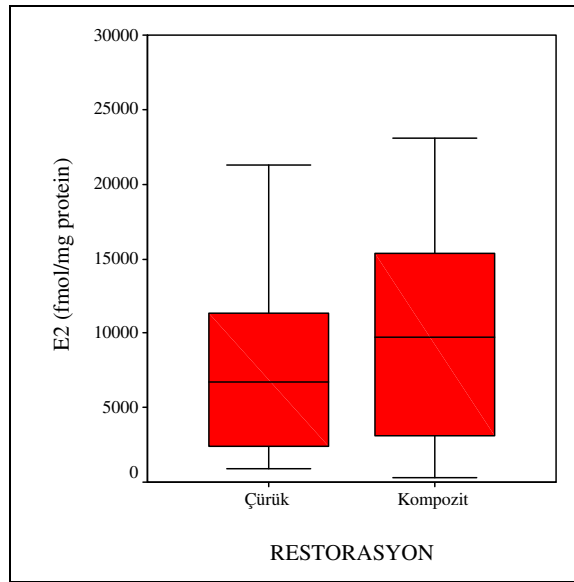
Restorasyon grupları olan çürük ve kompozit grupları arasında pulpa dokusunda ölçülen 17 $\beta$ -östradiol düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ( $p=0,606$ ). Çürük ve kompozit gruplarına göre 17 $\beta$ -östradiol düzeylerinin tanımlayıcı istatistikleri Tablo 4.9'da, kutu ve çizgi grafiği ise Şekil 4.6'da sunulmuştur.

Pulpa dokusundan ölçülen 17 $\beta$ -östradiol düzeyinin cinsiyete göre restorasyon grupları arasında farklılık olup olmadığı incelenmiştir. Buna göre kadınlarda çürük ve kompozit grupları arasında 17 $\beta$ -östradiol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ( $p=0,246$ ). Kadınlardaki 17 $\beta$ -östradiol değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri yine Tablo 4. 9' da verilmiştir.

Erkeklerde kompozit grubunda  $n=2$  kişi bulunmaktadır. Bu gruptaki kişi sayısının istatistiksel olarak yeterli olmamasından dolayı, analiz yapılamamıştır.

**Tablo 4. 9. E<sub>2</sub> Düzeyinin Çürük ve Kompozit Gruplarına Göre Dağılımı**

Cinsiyet	Restorasyon	n	Ortanca D.	En küçük- En büyük D.	p
<b>Kadın+Erkek</b>	Çürük	25	6038,2	867-21277	0,606
	Kompozit	8	9761,5	270-23050	
<b>Kadın</b>	Çürük	19	9653,0	867-21277	0,246
	Kompozit	6	12021,0	4567-23050	

**Şekil 4. 6. E<sub>2</sub> Düzeyinin Restorasyona Göre Dağılımı.**

## TARTIŞMA

Endokrin sisteme ait özelleşmiş salgı bezleri ve dokular tarafından vücutta üretilen, hedef hücre veya organlarda; düzenleyici, şekillendirici ve bütünleyici fonksiyonları bulunan kimyasal maddeler, hormon olarak adlandırılmaktadır (4).

Hormonlar; kimyasal bileşimleri, çözünürlük özellikleri, reseptörlerin yerleşimi ve hücre içinde hormonun etkisine aracılık eden sinyalin doğasına göre sınıflandırılmaktadır. Östrojen hormonları bu sınıflandırmada “hücre içi reseptöre bağlanan grup” ta yer almaktadır (6).

Östrojen hormonları lipid yapısında olup, kolesterolden türetilmekte ve salgılanmalarından sonra serumda taşıyıcı proteinlerle birleşip, ilgili hücrelere ulaşmaktadır (10). Bu lipofil moleküller, bütün hücrelerde, plazma zarından hücre içine sızabildikleri halde sadece hedef hücrede, kendilerine özgü, yüksek seçiciliği olan reseptörlere bağlanmaktadır (21). Reseptörlerin aktive edişi ile transforme olan hormon-reseptör kompleksi, çekirdek içine taşınarak, nükleer kromatine bağlanmaktadır. Yapılan pek çok araştırmaya göre steroidlerin özel haberci ribonükleik asit (mRNA)’lerin üzerindeki etkisi DNA’nın ribonükleik asit (RNA)’e çevrilmesi basamağında olmaktadır. Bu etkileşim bilinmeyen bir biçimde mRNA düzeylerini etkilemektedir. Oluşan mRNA, pek çok enzim ve spesifik sitoplazmik proteinlerin sentezini yönlendirerek çeşitli etkilere neden olmaktadır (22).

Östrojen hormonunun, çekirdekte gerçekleştirdiği RNA transkripsiyonu ile salınan mRNA’lar vücutta; kadın seks organları, kadın ikincil seks karakterlerinin gelişimi (23), menstrüel siklusun düzenlenmesi (12), gebeliğin sürdürülmesi (11), kalsiyum homeostazisini değiştirerek kemik metabolizmasının değişimi (38), puberte öncesi dönemde kızlarda lineer kemik büyümesinin hızlanması gibi pek çok önemli fonksiyonu etkilemektedir (9).

20’den fazla östrojen hormonunun tespit edilmiş olmasına rağmen, sadece 17- $\beta$  östradiol, östron ve östriolün klinik öneme sahip olduğu bilinmektedir. 17 $\beta$ -

östradiol, over tarafından salgılanan en etkili östrojen hormonu olup, overe ait fonksiyonların değerlendirilmesinde yalnız  $17\beta$ -östradiol'ün ölçümü yeterli olmaktadır (122).

Ovaryum foliküllerinin teka interna ve granüloza hücreleri,  $17\beta$ -östradiol'ün overdeki oluşumunda rol oynayan androsteneidonun ve testosteronun kaynağıdır. Bu hücrelerde meydana gelen aromatisasyon sonucu sekrete edilen  $17\beta$ -östradiol'ün bir kısmı folikül sıvısında toplanırken, büyük bir kısmı kan dolaşımına geçmektedir. Kadınlarda kan dolaşımına geçen  $17\beta$ -östradiol, başlıca karaciğerde olmak üzere, tüm vücutta östron ve östriole dönüşebilmektedir (9).

Vücutta bulunan tüm hormonlarda olduğu gibi  $17\beta$ -östradiol'e karşı biyolojik yanıt alınabilmesi için de hedef hücrede bu hormonun bağlanabileceği spesifik reseptörlerin olması gerekmektedir (21, 22).

İmmünohistokimyasal çalışmaların gelişmesi, oral mukoza ve oral bölgedeki destek dokularda östrojen reseptörlerinin tespit edilmesini sağlamıştır. Reseptör tayini ile östrojen hormonu için hedef olduğu düşünülen bu dokuların,  $17\beta$ -östradiol'e verdikleri cevabı değerlendirmek için çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Oral mukozada (41), tükürük bezlerinde (12), periodontal dokularda (59), alveol kemiğinde (81), TME'de (123) östrojen reseptörlerinin bulunması, bu yapıların  $17\beta$ -östradiol için hedef doku olmasını sağlamaktadır.

$17\beta$ -östradiol hormonunun oral mukozada epitel kalınlığını ve keratinizasyonunu etkilediği tespit edilmiştir. Özellikle hormon seviyesinde ciddi değişikliklerin olduğu menopoza ve menstrüel faz sırasında inflamasyona meyilli atrofik ve ince epitel dokusunun oluşumunda da etken olduğu düşünülmektedir (46, 47).

Periodontitiste, dişeti hastalığını başlatan en önemli etken "bakteriyel diş plağı" olsa da, vücudun direncini veya yapısını değiştirerek dişeti hastalıklarının oluşumunu etkileyen pek çok faktör vardır. Hormonların vücut sistemlerindeki

öneminin anlaşılması ile bu konuda yapılan yeni araştırmalar, periodontal hastalıkların etiolojisinde  $17\beta$ -östradiol hormonunun da rol oynadığını göstermektedir (58, 59).

$17\beta$ -östradiol'ün periodontal dokuların patogenezindeki rolü; PMNL'i etkileyip immün cevabı değiştirmesi (61), epitelyal glikojeni artırıp, azalan keratinizasyonla epitelyal bariyeri zayıflatması (62), spesifik mikroorganizmaların artmasına neden olması ve dişetindeki mikrovaskülarizasyonu değiştirmesi şeklinde olmaktadır (63, 71).

Östrojen hormonu, oral kavitede yer alan tükürük bezlerini etkileyerek tükürüğün kompozisyonunu, akış hızını ve miktarını değiştirmektedir.  $17\beta$ -östradiol'ün tükürük kompozisyonuna olan etkisine; menstrüel siklus boyunca tükürükteki peroksidaz düzeyinin ve Ig A düzeyinin değişim göstermesi, hamilelikte tükürüğün inorganik yapısı ve protein kombinasyonunun değişmesi örnek verilebilmektedir (86, 87).  $17\beta$ -östradiol'ün tükürük bezlerine olan bir diğer etkisi ise menopoza sonrası kadınlara uygulanan hormon replasman tedavisinin tükürük akış hızını arttırmasıdır (88).

Diş hekimleri için maksillofasiyal bölgedeki en önemli yapılardan biri olan temporomandibular hastalıkların patogenezinin aydınlatılması oldukça önemlidir. Son yıllarda seks steroidlerinin dokular üzerine olan etkilerinin çözülmeye başlanması, bilim adamlarını TME hastalıkları ile  $17\beta$ -östradiol hormonu arasındaki ilişkiyi araştırmaya sevk etmiştir. Bu hastalığı olan bireylerde dolaşımdaki  $17\beta$ -östradiol seviyesinin yüksek çıkması ve eklem yapılarında östrojen reseptörlerinin bulunması, östrojen hormonunun TME hastalıklarının fizyopatolojisinde rol oynayabileceğini göstermektedir (123).

Normal şartlarda diş pulpası mine, dentin, sement gibi koruyucu bir yapı ile çevrilidir. Bu koruyucu tabakanın hasar görmesi, pulpa dokusunda inflamasyonun gelişmesine neden olmaktadır. Pulpal hastalıkların temelinde yatan neden, bakterilere karşı verilen immün cevabın, proinflamatuvar sitokinleri ve kemik rezorpsiyonuna

neden olan faktörleri arttırmasıdır. Pulpal hastalıkların gelişmesinde; doku tipi plazminojen aktivatörü (124), siklooksijenaz-2 (COX-2) (125), proinflamatuvar sitokinler (125, 126), P maddesi (127) ve damar endoteli büyüme faktörü'nün (115) salınımında meydana gelen değişikliklerin rol oynadığı düşünülse de pulpal hastalıkların meydana gelişindeki kesin mekanizma hala tam olarak çözülememiştir.

Over hormonlarının oral mukoza üzerine olan etkileri ile ilgili pek çok araştırmanın yapılmış olması, Whitaker ve diğ'ni (89), diş pulpası ve pulpal orijinli lezyonlarda östrojen reseptörünün varlığını araştırmaya yöneltmiştir. Menstrüel faz sırasında daha belirgin hale gelen pulpa poliplerinin, hamilelik döneminde sık karşılaşılan ve yapısında östrojen reseptörlerinin varlığı tespit edilmiş olan piyojenik granüloma ile benzerlik göstermesi, Whitaker ve diğ'ne (89) pulpa dokusunda östrojen reseptörlerinin bulunduğunu düşündürmüştür. Ancak immünohistokimyasal inceleme sonrasında pulpadaki odontoblast ve fibroblast hücrelerinde östrojen reseptörünü tespit edememişlerdir.

Whitaker ve diğ'nin (89) yaptıkları araştırmadan sonra Juike ve diğ. (90) kadın ve erkek pulpa dokusunda bulunan odontoblast hücrelerinde, endotel hücrelerinde ve Schwann hücrelerinde östrojen reseptörlerinin varlığını tespit etmişlerdir.

Jukie ve diğ'ne (90) göre, Whitaker ve diğ'nin (89) çalışmalarında östrojen reseptörüne rastlayamadıkları halde, pulpa dokusunda progesteron reseptörünü göstermeleri, kullandıkları metodun yetersiz olmasıdır. Çünkü progesteron reseptörleri genellikle östrojen reseptörlerinin olduğu dokularda bulunmaktadır.

Son yıllarda östrojen reseptörü bulunan yani östrojen hormonuna duyarlı dokularda yapılan araştırmalar, östrojen hormonunun hücresel düzeydeki miktarının tespit edilmesinin önemini vurgulamaktadır (128). Önceki yıllarda pek çok bilimsel çalışmada çeşitli tedavi yöntemlerinin biyokimyasal etkileri, plazma östrojen düzeylerine bakılarak değerlendirilmiştir. Ancak plazma östrojen düzeyinin çeşitli dokulardaki hormon konsantrasyonunu tam olarak yansıtmıyor olması, bu

hormonların miktarlarının hücresele düzeyde tespit edilmesi ile biyolojik etkilerinin daha fazla aydınlatılmasına olanak sağlayacağını düşündürmüştür (129).

Geçmiş yıllarda pulpa dokusundaki östrojen reseptörü varlığı ile ilgili literatürde çok az çalışma olmasına rağmen (89, 90), pulpa dokusunda östrojen hormonunun varlığı ve düzeyi ile ilgili araştırmaya rastlanılmamıştır. Bizim çalışmamız vücutta en aktif östrojen hormonu olan 17 $\beta$ -östradiol'ün erkek ve kadın hastaların pulpa dokusundaki varlığını gösteren ilk araştırmadır. Ayrıca bu çalışma ile sağlıklı pulpa dokusu ve irreversible pulpitisli pulpa dokuları arasındaki 17 $\beta$ -östradiol düzeyleri de ilk defa karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda, kemilüminesans mikropartikül immünölçüm yöntemi kullanılarak yapılan ölçümler sonucunda hem kadın, hem de erkeklerin pulpa dokularında 17 $\beta$ -östradiol hormonu tespit edilmiştir. Erkek hastaların sağlıklı pulpa dokusundaki hormon seviyesi ortalama 3177,25  $\pm$  1385,31 fmol/mg pr, kadın hastaların ise ortalama 5407,0  $\pm$  3743,62 fmol/mg pr'dir. İstatistiksel çalışmalar kadın hastaların sağlıklı pulpa dokusu ile irreversible pulpitisli pulpa dokusu arasında fark olduğunu göstermiştir (p<0,05). Erkek hastalarda irreversible pulpitisli pulpa dokusundaki 17 $\beta$ -östradiol hormon seviyesi daha yüksek olmasına rağmen, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05).

Çalışmamız sonucunda sağlıklı pulpa ile irreversible pulpitisli pulpa dokularında 17 $\beta$ -östradiol seviyelerinin farklı çıkması, hormonların biyolojik etkilerinin değerlendirildiği araştırmaların hücresele düzeyde yapılmasının ne kadar önemli olduğunu göstermektedir.

17 $\beta$ -östradiol hormon düzeyinin irreversible pulpitisli dişlerin pulpa dokularında yüksek çıkması, inflamasyon varlığında östrojen hormonunun periferale aromatisasyonunun olabileceği hipotezini düşündürmektedir.

Östrojen biyosentezi, aromataz enzimi tarafından katalize edilmektedir. Canlılarda over dışında beyinde, plasentada, meme dokusunda, yağ dokusunda ve

kemiklerde bulunan aromataz enzimi “aromatase cytochrome P450”, 17 $\beta$ -östradiol’ün periferel aromatisasyonunda rol oynamaktadır (130) ancak literatürde pulpa dokusunda bu enzimin varlığı ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Androjenlerin çevresel aromatisasyonu ile kas, deri, karaciğer, diğer bazı dokular ve derialtı yağ dokusunda östrojen hormonunun üretildiği tespit edilmiştir. Gebelik sırasında anne serum östradiol derişimi çok artmakta olup, gebelikte üretilen 17 $\beta$ -östradiol’ün %50’si, plasentada androjenlerin çevresel aromatisasyonu ile oluşmaktadır. Menopoz döneminde ise androsteneidonun östrona çevrimi, menopoz sonrası kadınlardaki en önemli östrojen kaynağıdır (8, 9).

Seksüel olgunluktaki kadınlarda sentez edilen östrojenlerin yaklaşık %40 kadarından sorumlu olan periferel aromatisasyon, postmenapozal dönemde sentezlenen östrojenlerin tamamından sorumludur (8, 9). Özellikle erkeklerde testesteronun 17 $\beta$ -östradiol’e çevresel aromatize edilişi, erkeklerde bulunan östrojenin %85’inden sorumludur (11). Çalışmamızda İPP dokusunda 17 $\beta$ -östradiol seviyesinin yükselmesi, bu durumun hormonun proinflamasyonda oynadığı role bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Black-pigmented bakteri türleri endodontik enfeksiyonlarda en sık görülen bakterilerdir (116). Black-pigmented bakterilerin varlığında pulpa dokusunda salınımı artan IL-1 $\alpha$  ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinler, IL-6 salınımını da arttırmaktadır. IL-6, doku hasarı ve enfeksiyon varlığında konak cevabını düzenleyen major sitokindir (102, 116).

Sitokinler, özellikle lenfosit ve makrofajlar gibi hücre tipleri tarafından salınan polipeptitlerdir. Bunlar hücresele immün yanıtla beraber, inflamasyonda mediyatör olarak etki yapmaktadırlar. İnflamasyonda görülen en önemli sitokinler IL-1, IL-8 ve TNF’dür (131).

Pulpal inflamasyonlar sırasında proinflamatuvar sitokinlerin düzeyini değiştiren faktörlerden biri de P maddesi adlı nöropeptitlerdir. P maddesi, duyu sinir

sonlanmalarında bulunup, inflamasyon sırasında IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını arttırmaktadır (131).

Pulpa dokusunda inflamasyon varlığında izlenen bir diğer nöropeptit CGRP (gen related peptide) olup, bunun IL-6, IL-8 ve TNF- $\alpha$  salınımını stimüle ettiği gösterilmiştir (132, 133).

İnflamasyon varlığında pulpada, sitokinlerden başka MMP miktarında da değişiklikler olmaktadır. MMP'ler hücreler arası sıvıda bulunup, dokunun yeniden yapılanmasında rol alan regülatör moleküllerdir. Özellikle doku harabiyeti söz konusu olduğunda ekspresyonlarında artış gözlenmektedir. Gusman ve diğ'nin (134) sağlıklı ve inflame pulpa dokusunda yaptıkları araştırma sonucunda, özellikle doku yıkımında aktif rol oynayan MMP-9 seviyesi inflame dokuda oldukça yüksek bulunmuştur.

MMP enzimleri çoğu defa sitokinlerle ortak hareket etmektedir. Örneğin IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi sitokinler ile TNF ve TGF- $\alpha$  gibi büyüme faktörleri, MMP'leri aktive edebilecekleri gibi, MMP ile deaktive de olabilmektedirler. IL-1'in epitel ve inflamatuvar hücrelerde IL-6, IL-8, GM-CSF ve MMP'lerin üretimini tetiklediği pek çok araştırmada gösterilmiştir. Schonbeck ve diğ. (135) inflame pulpaki doku yıkımında aktif rol oynayan MMP-9'un, IL-1 $\beta$ 'nın en önemli aktivatörü olduğunu belirtmişlerdir. Barkhordar ve diğ. (136) inflame pulpa fibroblastlarının sağlıklı pulpa dokusundan 2,5 kat daha fazla IL-1 $\beta$  içerdiğini göstermişlerdir.

Çeşitli araştırmalarda 17 $\beta$ -östradiol'ün; osteoblastik hücrelerde IL-1 $\beta$  mRNA'nın (137), dentritik hücrelerde IL-6 ve IL-8'in (138-140) ve keratinositlerden ise granülosit-makrofaj-koloni stimülan faktör (GM-CSF)'ün (141) salınımını arttırdığı tespit edilmiştir. Kumar ve diğ. (138), korneal epitel hücrelerinde IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF gibi pek çok proinflamatuvar sitokinlerin ve matriks metaloproteinaz (MMP) enzimlerinin sentez ve salınımında artış olduğunu bildirmişlerdir (137). Suziki ve diğ (142) ise korneada sitokin ve MMP salınımındaki artışta östrojen hormonunun rolü olduğuna dikkat çekmişlerdir.

IL-1 $\beta$  , IL-6 ve GM-CSF'nin 17 $\beta$ -östradiol sentezini katalize eden enzimlerin salınımında rol alması, bunların bulunduğu ortamda 17 $\beta$ -östradiol'ün periferal aromatzasyon ile sentezlenebileceğini düşündürmektedir (143). Özellikle kuru göz sendromu semptomlarının, östrojen replasman tedavisi görenlerde (144) ve oral kontraseptif kullananlarda (145) sık ortaya çıkması, 17 $\beta$ -östradiol sentezi ile inflamasyon arasında geri dönüşümlü bir mekanizmanın söz konusu olabileceği fikrini desteklemektedir.

Çalışmamızda irreversible pulpitisli pulpa dokusunda 17 $\beta$ -östradiol seviyesinde tespit edilen artışın çevresel aromatzasyon sonucu olabileceğini belirtmiştik Korneada enfeksiyon varlığında aromatzasyona yardımcı olan enzimlerin salınımında etkili olan sitokinlerin (142), pulpa dokusunda da tespit edilmiş olması hipotezimizi desteklemektedir. Korneada sitokinler, matriks metaloproteinazlar ve östrojen hormonu arasında gözlenen ilişki, inflamasyonun pulpa dokusunda periferal aromatzasyonla 17 $\beta$ -östradiol seviyesini arttıracığına dair hipotezi desteklemektedir. Ancak İPP dokusundaki 17 $\beta$ -östradiol seviyesinde meydana gelen artış mekanizmasını tespit edebilmek için yeni araştırmaların planlanması gerekmektedir.

Pulpada inflamasyonun varlığında ilk olarak vasküler yapı etkilenmektedir. Araşidonik asit (AA)'in, siklooksijenaz yolla metabolizması sonucu ortaya çıkan prostaglandinler, pulpa hastalıklarının patogeneğinde rol oynamaktadırlar. (146, 147) Okiji ve diğ. (148) pulpa dokusundaki inflamasyonun varlığında, prostaglandin E2 (PGE<sub>2</sub>) ve prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>)'nin damar permeabilitesini arttırdığını tespit etmiştir.

Vasküler dokuyu etkileyen bir diğerk faktör ise lipopolisakkaritler (LPS)'dir. Pulpitiste gram negatif bakterilerin ürettikleri LPS'ler, inflamatuvar mediyatörler olan sitokinlerin, prostaglandinlerin ve histaminin değışkenliğini stimüle etmektedir (149).

Mast hücreleri ve bazofiller histamini doğrudan salgılamak, bazı hücreler ise histidin dekarboksilaz enzimi (HDC) aracılığı ile salgılanım yapmaktadır. LPS, HDC

enzimi aracılığı ile histamin salgılanmasını indüklemektedir (150). Schayer (151), vasküler endotel hücrelerinin LPS'e bağlı HDC salınımının yapıldığı majör hücre tipleri olduğunu belirtmiştir.

Pulpa dokusunun geniş ölçüde vasküler endotel hücreleri içermesi ve bakterilerle sık kontamine olması, bu dokuyu HDC salınımı için hedef yapmaktadır. Pulpitiste pulpa dokusunda histaminin hızlı bir şekilde salınımı, inflamasyon için tetikleyici olmaktadır (152).

Miller ve diğ. (153) östrojenin vasküler dokular üzerine olan akut ve sürekli etkileri ile ilgili araştırmaları sonucunda,  $17\beta$ -östradiol'ün tek başına hücre içi  $Ca^{+2}$  düzeyinde ölçülebilir bir artış yapmadığı halde, histamin varlığında bu düzeyin oldukça arttığını göstermiştir. Ölçülen değer histaminin tek başına yaptığı etkiden daha fazla bulunmuştur.

Shoji (152), irreversible pulpitisli hastaların pulpa dokusunda histamin artışı olduğunu bildirirken, çalışmamız sonucunda  $17\beta$ -östradiol seviyesinde de artış olduğu tespit edildi. İnfekte dokuda hem  $17\beta$ -östradiol hormonu hem de histamin seviyesinde artışın olması, pulpal inflamasyon sırasında kapiller değişimlerin patogenezinde  $17\beta$ -östradiol'ün de rol alabileceğini düşündürmektedir.

Östrojen hormonunun immün sistemde oynadığı rol henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Pek çok otoimmün hastalıklar kadınları erkeklerden daha çok etkilemektedir. Sistemik Lupus Eritematozis (SLE)'in, Sjögren Sendromu'nun, Otoimmün tiroid hastalarının 80%'inden fazlasının kadın olması, seks hormonlarının özellikle de östrojen hormonunun otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (154). Östrojen seviyelerinde meydana gelen değişiklikler hastalığın seyrini etkilemektedir. Örneğin hamilelik sırasında SLE hastalığının oldukça kötüleştiği bilinmektedir. Ayrıca hamilelikte multiple skleroz ve romatoid artritli kişilerin hastalıklarının seyri östrojen seviyesinin en yüksek olduğu 3. trimester da gerilerken, doğum sonrasında tekrar alevlenmektedir (155).

Otoimmün hastalıklarda sekse bağlı gerçekleşen değişiklikler oldukça iyi bilinse de, bunun altında yatan hücrel mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

Genellikle hücrel düzeyde östrojen hormonunun etkisini değerlendirmek için, dolaşımdaki en yaygın bulunan  $17\beta$ -östradiol hormonu incelenmektedir. Bengtsson ve diğ. (140), östrojenin immün sistemdeki etkisini değerlendirmek için insan monosit hücrelerine bağımlı salınan dentritik hücrelerde  $17\beta$ -östradiol'ün yaptığı etkiyi araştırmışlardır.  $17\beta$ -östradiol, dentritik hücrelerde IL-6 üretimini oldukça arttırmıştır. Dentritik hücrelerin LPS tarafından uyarılması sonucunda ise IL-6, IL-10 ve TNF-  $\alpha$  dikkat çekici oranda artmıştır.  $17\beta$ -östradiol, LPS tarafından üretilen sitokinlerin miktarında herhangi bir değişiklik yapmamıştır.  $17\beta$ -östradiol bu çalışmada IL-8 ve MCP-1 ( monocyte chemoattractant protein 1) gibi bazı kemokinlerin artışını da stimüle etmiştir. Sonuçta Bengtsson ve diğ (140)  $17\beta$ -östradiol'ün inflamatuvar cevabın indüksiyonunda ve devamında rol oynayabileceğini belirtmişlerdir. Bu da  $17\beta$ -östradiol düzeyi arttığında, SLE gibi bazı otoimmün hastalıkların neden daha kötüye gittiğini açıklayabilmektedir.

Landi ve diğ (123), artralji, osteoartrit, osteoartrozis ve disk deplasmanı gibi TME hastalığı olan kadın ve erkeklerin serum  $17\beta$ -östradiol seviyesinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek düzeyde bulunduğunu göstermiştir. İmmünohistokimyasal çalışmalarla, TME'yi meydana getiren yapılardan biri olan diskte, östrojen reseptörünün varlığı tespit edilmiştir. Ancak eklemi saran kapsül içindeki sinoviyal sıvıda ve eklemi meydana getiren dokularda östrojen hormonunun varlığı ve varsa düzeyi bilinmemektedir. Araştırmamız sonucunda pulpa dokusunda  $17\beta$ -östradiol düzeyi yüksek çıkmıştır, ancak etik kurallara uygun olmadığı için hastalardan kan örnekleri alınamamıştır. Bu nedenle, pulpadaki östrojen artışının serum düzeyinde de artışa yol açıp açmadığı araştırılamamıştır.  $17\beta$ -östradiol'ün İPP dokusunda çevresel aromatisasyonla lokal olarak artıp artmadığının ve bu artışın serum düzeyinde de olup olmadığının tespiti için yeni araştırmaların yapılması gerekmektedir. Özellikle otoimmün hastalığı olan bireyler, infeksiyon odağı açısından değerlendirilirken, pulpitis varlığında serum östrojen seviyesinin

yükselebileceği düşünülerek, diş çürüklerinin tedavileri vakit kaybetmeden yapılmalıdır.

Kimyasal, mekanik veya mikrobiyal iritanların, pulpa dokusunda meydana getirdiği inflamasyon sadece damarsal bir olay olmayıp, sinir sisteminin de etki ettiği kompleks bir durumdur. Pulpa dokusunda iritanın meydana getirdiği uyarıya bağlı olarak, sinir ucundan nöropeptitlerle beraber nörotransmitterlerin de salınımı olmaktadır (111, 102, 118).

Nörotransmitterler, sinir hücrelerinin gövdelerinde sentezlenip, akson boyunca ilerleyerek sinir uçlarında veziküller şeklinde depolanmaktadır. Yapılarına göre; asetil kolinler, biyolojik aminler ve amino asitler olmak üzere 3 kısma ayrılmaktadırlar (153, 156).

Histamin, biyolojik amin grubunda yer alan bir nörotransmitter olup, sinir hücresinde lokal  $Ca^{+2}$  artışına neden olmaktadır. Miller ve diğ.'nin (153) yaptıkları araştırmada, bu artışın  $17\beta$ -östradiol varlığında daha da yüksek seviyede olduğu gösterilmiştir. Sonuçta hücre içi  $Ca^{+2}$  miktarının değişmesine bağlı olarak, sinir sistemindeki sinaptik iletim provoke olmaktadır.

Nörotransmitter maddelerden bir diğeri olan GABA ( $\gamma$ -amino bütirik asit), inhibitör etkili bir amino asit nörotransmitteridir. Anksiyolitikler, sedatif/hipnotik ajanlar, kas gevşeticiler etkilerini beyindeki GABA reseptörlerine bağlanarak yapmaktadır. Bu durum, bilim adamlarını neredeyse insanlık tarihi kadar eskiye dayanan ağrının kontrolü ve giderilmesi çalışmalarında GABA'ı araştırmaya yöneltmiştir (157).

$17\beta$ -östradiol varlığında GABA reseptör ekspresyonunun artış göstermesi ile GABA reseptör etkileşiminin artışı da gerçekleşmektedir. Bu reseptör-GABA kompleksi, GABA'in inhibitör aktivitesini arttırarak GABAerjik analjeziye neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda,  $17\beta$ -östradiol varlığında beyinde opioidlerin mRNA' larının ekspresyonunun modüle edildiği gösterilmiştir. Sonuçta  $17\beta$ -

östradiol reseptör yoğunluğunun ve reseptöre bağımlı sinyal iletiminin artış göstermesi ile opioid analjezi artmaktadır (158).

GABA ve östrojen hormonu ile yapılmış pek çok çalışmanın olmasına rağmen, pulpada varlığı tespit edilmiş olan GABA reseptörlerinin etkisi ile ilgili çalışmaya rastlanılmamıştır. Araştırmamız sonucunda infekte pulpa dokusunda artışı tespit edilen  $17\beta$ -östradiol hormonunun pulpa dokusundaki GABA reseptörlerine olan etkisi ve akut pulpa ağrısındaki fizyopatolojisi bilinmemektedir.

Kadınlarda ortalama 12-51 yaş arasında, uterusun iç yüzeyini döşeyen endometriyumun fonksiyonel tabakasının atılması ile meydana gelen kanamaya menstruasyon (adet, regl, kanama) denilmektedir. Bir adetin ilk gününden, takip eden adetin ilk gününe kadar geçen süreye menstrüel siklus denilmektedir (9). Kanamanın ilk günü siklusun 1. günü olarak kabul edilir ve bu süre ortalama 28 gündür (9, 13).

Üreme dönemindeki kadınların dolaşımında  $17\beta$ -östradiol hormonunun seviyesi fizyolojik olarak menstrüel siklus boyunca değişiklik göstermektedir. Plazma östradiol seviyesi foliküler fazda ovumun büyümesine paralel olarak artıp ovulasyondan yaklaşık 1 gün önce en yüksek seviyesine ulaşmaktadır. Ovülasyon siklusun yaklaşık 14. gününde gerçekleşmektedir. Ovülasyondan sonra adetin ilk gününe kadar, foliküler faza göre daha düşük seviyede  $17\beta$ -östradiol hormonunun salgılandığı luteal faz izlenmektedir (159).

Menstrüel siklusla ilgili pek çok araştırmada periovulatuvar dönemde plak indeksinde ciddi bir farklılık olmaksızın dişeti inflamasyonu indeksinin arttığı tespit edilmiştir. Seks hormon düzeyinin artışına bağlı olarak polimorfonükleer lökositlerin (PMNs) fagositik kapasiteleri azalırken,  $IL-1\beta$ 'nin seviyesinin yükselmesi dişeti inflamasyonunu arttıran faktörlerden biridir (160).

Koreeda ve diğ.'nin (161) sundukları bir vaka takdiminde, menstrüel döngünün ovulatuvar fazındaki bir kadın hastanın, kanama indeksinin arttığı ve dişeti iltihabının alevlendiği görülmüştür. Bunu Japon kadınlarının menstrüel periodları sırasında 11-82 pg/mL seyreden östrojen düzeyinin, ovulatuvar fazda 120-130 pg/mL'

ye çıkmasına bağlamışlardır. Angstwurm ve diğ (162) insanlarda serum IL-6 düzeyinin luteal fazda en az, preovulatuvar fazda ise en yüksek olduğunu göstermişlerdir.

Araştırmamızda yer alan kadın hastalar, siklus başlangıç tarihine göre mensturasyon, foliküler faz ve luteal faz olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Halen adet görmekte olan hastalar mensturasyon grubunda yer alırken, adet bitiminden siklusun 14. gününe kadar olan hastalar foliküler faz grubunda değerlendirilmiştir. Siklusun 14. günü ile bir sonraki siklusun ilk gününe kadar olan dönemde bulunan hastalar ise luteal faz grubuna dahil edilmiştir. Reprodüktif çağda kadınlarda siklus gününe göre 5-410 pg/ml, 18-1266 pmol/L, 1-17 µg/gün veya 0,4-8,3 nmol/gün arasında değişen serum 17-β östradiol düzeyinin erişkin bir erkekteki seviyesi 10-50 pg/ml, 37-184 pmol/L, 1-4 µg/gün, 0,4-1,7 nmol/gün'dür (15).

Grupların pulpa dokusunda bulunan 17β-östradiol seviyelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucu gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Sonucun bu şekilde olması, hastalardan alınan menstrüel siklusla ilgili anamnezlerin güvenilir olmamasına ve anamneze göre yapılan sınıflandırmanın siklus gününü tam olarak gösterememesine ve hasta sayısının yeterli olmamasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Menstrüel siklus gününün ve fazın tam olarak bilinmesi için ultrason ve serum östradiol düzeyinin birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Serum östradiol seviyesi tüm siklus boyunca sürekli değiştiği için hastanın bulunduğu fazda östrojen seviyesi sabit kalmamaktadır. Bu nedenle pulpa dokusundaki östradiol seviyesi ile faz ilişkisini değerlendirirken, dokunun alındığı günkü serum östradiol seviyesinin de bilinmesi anlamlı olacaktır.

Trott (81)'un ratlar üzerinde yaptığı bir araştırmada submandibular tükürük bezinin parotis bezinden 4 kat daha fazla miktarda östrojen reseptörü içeriyor olması, reseptör ve hormon düzeyleri arasında lokalizasyona göre bir değişiklik olabileceğini düşündürmektedir.

Chandler ve diğ (163)'nin maxilla ve mandibulada yer alan 1. molar dişlerin pulpa odalarının boyutlarını karşılaştırdıkları araştırmaları sonucunda, pulpa odasının boyutunun lokalizasyona, cinsiyete ve ırka göre değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Lokalizasyona göre gerçekleşen bu değişiklik beyaz ırkın maksilladaki pulpa odasının daha geniş olmasıdır. Fanibunda (164), maxiller 1. molar diş pulpa odası hacminin mandibular dişlerden daha fazla olduğunu tespit etmiştir. Lokalizasyonun pulpa boşluğunun boyutunu etkilemesi, ekstirpe edilen pulpa dokusundaki 17β-östradiol'un lokalizasyona göre fark yaratıp yaratmadığının araştırılmasına neden olmuştur. Alt ve üst çene olmak üzere ikiye ayrılan çalışma gruplarımızdan elde edilen östradiol değerleri karşılaştırılmış ancak bu karşılaştırma sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanılmamıştır ( $P>0,05$ ).

İnsanlarda, hayvanlarda, bitkilerde ve hatta mikroorganizmalarda hormon benzeri ya da sahte hormon etkisi gösteren, doğal ve yapay kökenli pek çok endokrin madde veya metabolitleri vardır. Bu endokrin maddelerin düşük konsantrasyonları bile canlılarda değişikliklere yol açabilmektedir (165).

Diş hekimliğinde kullanılan kompozit rezinlerin, adeziv rezinlerin, fissür örtücülerin ve geçici kron yapımında kullanılan polikarbonatlar gibi pek çok dental materyalin yapısında bulunan bisphenol A, bisphenol A dimetakrilat (bis-DMA) veya bisphenol A bisglisidil metakrilat (bis-GMA) gibi kimyasallar, endokrin etkisi gösteren maddelerdir (166- 168).

Bisphenol A (BPA), dünyada en önemli ve yaygın kullanımı olan kimyasal bir madde olup, östrojenik etkisi 1936 yılından beri bilinmektedir (101). Fissür örtücülerin, kompozit dolgu maddelerinin ve polikarbonat esaslı geçici kronların genellikle monomerleri içinde bulunan ve uygulandıktan sonra tükürüğe sızdığı tespit edilen BPA'nın, tükürükte oldukça düşük konsantrasyonlarda bulunup, östrojenik aktivitesinin yaklaşık 1 saat içinde kaybolduğu bildirilmiştir. Ancak deneylerin genellikle invitro yapılması, bu maddelerin fizyopatolojik etkilerini değerlendirmek için bu yönde yeni araştırmaların yapılmasını gerektirmektedir (166, 168).

Literatürde tükürüğe olan sızıntısı ile ilgili çalışmalar olmasına rağmen, bisphenol A'nın pulpaya etkisi henüz tam olarak bilinmemektedir. Preperasyonlar sırasında dentin tabakasındaki işlemler, dentin tübüllerini etkilemektedir. Mikroorganizmaların ve yabancı cisimlerin dentin tübülleri aracılığı ile pulpaya ulaşabilmesi mümkündür. Dentin tübüllerinde ilerleyip, pulpaya ulaşan kimyasal ve mikrobiyolojik irritanlar, genellikle burada inflamasyonun gelişmesine neden olmaktadır (107).

Pulpa dokusunda östrojen reseptörlerinin bulunması, BPA ve benzer endokrin maddelerin pulpaya ulaştığı takdirde burada çeşitli kimyasal reaksiyonları gerçekleştirebileceğini düşündürmektedir. Araştırmamızda irreversible pulpitisli dokulardaki  $17\beta$ -östradiol düzeylerinin, kompozit dolgulara ve çürük varlığında değerlendirilmesi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Örnek sayısının az olması ve sağlıklı dokularda herhangi bir restorasyonun bulunmaması, BPA'nın pulpaya olan etkisini değerlendirmek için yeni çalışmaların yapılması gerekliliğini düşündürmektedir.

Pulpa dokusunun, dentin tübülleri ve apikal foramen aracılığı ile inflamatuvar ajanlara sık maruz kalması ve dentin ile çevrili izole bir yapı olması, bu dokuyu bilimsel olarak inflamasyonla ilgili çalışmalar için cazip kılmaktadır. Vücutta pek çok fizyolojik ve patolojik olayda rol oynayan östrojen hormon reseptörlerinin pulpa dokusunda tespit edilmesi ile bu dokunun östrojen hormonu için hedef olması kaçınılmazdır. Ancak literatürde bu alanda yapılmış çalışmaya rastlanılmamıştır.

Araştırmamız pulpa dokusunda vücuttaki en etkin östrojen hormonu olan  $17\beta$ -östradiol hormonunun varlığının tespit edilmesi, hormon düzeylerinin sağlıklı pulpa dokuları ile irreversible pulpitisli pulpa dokuları arasında farklılık göstermesi nedeniyle inflamasyonun patogenezinin anlaşılması, tedavisi ve ağrı kontrolü ile ilgili çalışmalar için umut verici olabilir.

## SONUÇLAR

Çalışmamızda; sağlıklı pulpa grubundaki örnekler, çekim endikasyonu olan alt ve üst çene 3. molar dişlerin pulpa dokusundan, irreversible pulpitisli pulpa grubundaki örnekler ise klinik ve radyografik değerlendirmeler sonucu irreversible pulpitis tanısı konulan ve akut semptomları bulunan molar dişlerin pulpa dokularından elde edilmiştir. Kemilüminesans mikropartikül immünölçüm yöntemi kullanılarak yapılan analiz sonucunda;

1. Dokuların elde edildiği erkek ve kadın hastalar arasında  $17\beta$ -östradiol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p<0,001$ ). Kadın hastaların pulpa dokularındaki  $17\beta$ -östradiol hormon seviyesi daha yüksektir.
2. Pulpa dokularında ölçülen  $17\beta$ -östradiol düzeyleri doku tipine göre incelendiğinde, İPP'lı grubun  $17\beta$ -östradiol düzeyi SP'ya göre daha yüksek bulunmuştur ( $p=0,024$ ).
3. Pulpa dokularında ölçülen  $17\beta$ -östradiol düzeyleri cinsiyet ve doku tipine göre incelendiğinde; erkeklerde doku tipine göre  $17\beta$ -östradiol düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ( $p=0,161$ ), İPP'lı gruptaki hormon düzeyleri SP'lı gruba göre daha yüksektir. Kadınlarda ise İPP'lı grupta  $17\beta$ -östradiol değerleri ( $10412,3 \pm 6060,2$ ), SP'lı gruba ( $5407,0 \pm 3743,62$ ) göre daha yüksek bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,007$ ).
4. Çalışmamızda örneklerin elde edildiği dişlerin alt ve üst çenede lokalizasyonlarına göre  $17\beta$ -östradiol düzeyleri açısından farklılık bulunmamıştır ( $p=0,442$ ).
5. Araştırmamızda kadın hastaların menstrüel fazlarına göre  $17\beta$ -östradiol düzeyleri değerlendirildiğinde mensturasyon, foliküler ve luteal fazdaki grupların arasında  $17\beta$ -östradiol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ( $p=0,795$ ).

6. Restorasyon grupları olan çürük ve kompozit grupları arasında pulpa dokusunda ölçülen 17 $\beta$ -östradiol düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur (p=0,606).

**KAYNAKLAR**

1. Rhoades, P.G., Endocrine control mechanism, “Medical Physiology” (Ed. R.A. Rhoades ve G.A. Tanner)’de, Little Brown and Company, Boston, s. 633-653, 1995.
2. Guyton, A.C., Endocrinology and reproduction, “Textbook of Medical Physiology” (Ed.A.C. Guyton ve J.E. Hall)’de, X. Baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia, s. 836-966, 2000.
3. Henderson J., Ernest Starling and ‘Hormones’: an historical commentary, J Endocrinol., 184, 5-10, 2005.
4. Hillier S.G., 100 years of hormones: pathway biology as the fifth force in endocrinology, J. Endocrinol., 184, 3-4, 2005.
5. Yılmaz B., Hormonlar, “Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi” (Ed. B. Yılmaz)’nde, Feryal Matbacılık, Ankara, s. 1-7, 1999.
6. Loriaux D.L., An introduction to endocrinology, “Endocrinology” (Ed. L.J. DeGroot ve J.L. Jameson)’de, IV. Baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia, s. 1-2, 2001.
7. Burçak C.G., Hormonlar, “İnsan Biyokimyası” (Ed. T. Onat, K. Emerk., E.Y. Sözmen)’nda, Palme Yayıncılık, Ankara, s. 437-464, 2002.
8. Yılmaz B., Dişi Üreme Hormonları, “Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi” (Ed. B. Yılmaz)’de, Feryal Matbaacılık, Ankara, s. 407-430, 1999.
9. Bayraktar M., Endokrin over hastalıkları, “Endokrinoloji Temel ve Klinik” (Ed. S. Koloğlu)’de, Medical Network & Nobel, Ankara, s. 669-684, 1996.
10. Menteş G., Gonadlar ve steroid hormonları, “İnsan Biyokimyası” (Ed. T. Onat, K. Emerk., E.Y. Sözmen)’nda, Palme Yayıncılık, Ankara, s. 491-501, 2002.

11. Granner D.K., Cinsiyet bezi hormonları, “Harper’ın Biyokimyası” (Ed. R.K. Murray ve ark)’nda, Barış Kitapevi, İstanbul, s. 648-663, 1993.
12. Guyton A.C., Kadında gebelikten önce cinsel faaliyet ve cinsel hormonlar, “Tıbbi Fizyoloji” (Ed. A.C. Guyton )’de, Nobel Kitabevi, İstanbul, s. 1405-1417, 1989.
13. Oktay K. Menstrüel döngü (siklus) ve nöroendokrin kontrolü, “Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi” (Ed. O. Kışnişçi)’nde, Güneş Kitabevi, Ankara, s. 1119-1121, 1996.
14. Aslan D. Klinik laboratuvar referans bilgileri, “Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler” (Ed. D. Aslan)’de, Palme Yayıncılık, Ankara, s. 955-1028, 2005.
15. Gardano M.P., Neward S.J., Menopause and postmenopause, Clin. Endo. and Metab., 11, 311-340, 1997.
16. Enmarrk E., Gustafsson J.A., Oestrogen receptors- an overview. J. Int. Med., 246, s. 133-138, 1999.
17. Mainwaring, W.I.P., Steroid receptors, “ Cellular Receptors” (Ed. D. Schulster ve A. Levitzki)’ de, John Wiley & Sons, Chichester, s. 91-125. 1980.
18. Baxter J.D., Funder J.W., Hormone receptors, N. Engl. J. Med, 301, s. 1149-1161, 1979.
19. Jehnsen E.v., De Sombre E.R., Estrogen- receptor interaction, Science, 182, s. 126-134, 1973.
20. Hortwitz K.B., Mc Guire W.L., Nuclear estrogen receptors, J. Biol. Chem., 255, s. 9699-9705, 1980.
21. Parkar, M.H., Newman, H.N., Olsen, I., Polymerase chain reaction analysis of oestrogen and androgen receptor expression in human gingival and periodontal tissue, Archs. Oral Biol., 41, s. 979-983, 1996.

22. Morishita, M., Shimazu, A., Iwamoto, Y., Analysis of oestrogen receptor mRNA by reverse transcriptase-polymerase chain reaction in human periodontal ligament cells, *Archs. Oral Biol.*, 44, s. 781-783, 1999.
23. Weigel N.L., Rowan B.G., Estrogen and progesteron action, "Endocrinology" (Ed.L.J.DeGroot ve J.L. Jameson)'de, 4.Baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia, s. 2053-2061, 2001.
24. Marshall J.C., Hormonal regulation of the menstrual cycle and mechanisms of ovulation, "Endocrinology" (Ed. L.J. DeGroot ve J.L. Jameson)'de, IV.Baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia, s. 2073-2086, 2001.
25. Yılmaz B., Hipofiz, "Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi" (Ed. B. Yılmaz)'nde, Feryal Matbacılık, Ankara, s. 36-81, 1999.
26. Marshall J.C., Regulation of gonadotropin synthesis and secretion, "Endocrinology" (Ed. L.J. DeGroot ve J.L. Jameson)'de, IV. Baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia, s. 1916-1926, 2001.
27. Tolbert T., Oparil S., Cardiovascular effects of estrogen, *Am. J. Hypertens.*, 14, s. 186-193, 2001.
28. Koch K.K., Mincemoyer R., Bui M.N., Csako G., Effects of hormone replacement therapy on fibrinolysis in postmenapausal women, *N. Eng. J. Med.*, 336, s. 683-690, 1997.
29. Menteş G. Gonadlar ve steroid hormonları, "İnsan Biyokimyası" ( Ed. T. Onat, K. Emerk., E.Y. Sözman)'nda, Palme Yayıncılık, Ankara, s. 491-501, 2002.
30. Gyllenberg J, Rasmussen S.L, Borch-Johnsen K, Heitmann B.R., Skakkebaek N.E., Juul A., Cardiovascular risk factors in men: The role of gonadal steroids and sex hormone-binding globulin, *Metabolism*, 50, 882-888, 2001.

31. Williams J.K., Adams M.R., Herrington D.M., Clarkson T.B., Short-term administration of estrogen and vascular responses of the atherosclerotic coronary arteries, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 20, s. 452-457, 1992.
32. Kitler M.E., Coronary disease are the gender differences?, *Eur. Heart. J.*, 15, s. 409-417, 1994.
33. Hermenegildo C., Garcia-Martinez M.C., Tarin J.J., Llacer A., Cano A., The effect of oral hormone replacement therapy on lipoprotein profile, resistance of LDL to oxidation and LDL particle size, *Maturitas*, 38, s. 287-295, 2001.
34. Stachenfeld N.S., DiPietro L., Palter S.F., Nadel E.R., Estrogen influences osmotic secretion of AVP and body water balance in postmenopausal women, *Am. J. Physiol.*, 274, s. 187-195, 1998.
35. Ganong W.F., *Review of Medical Physiology*, Mc Graw Hill, USA, 2001.
36. Sherwood L., *Fundamentals of Physiology*, West Publishing Company, 1991.
37. Brincat M.P., Baron Y.M., Galea R., Estrogens and the skin, *Climacteric*, 8, 110-123, 2005.
38. Denda M., Kowama J., Hori J., Age and sex dependent change in stratum corneum sphingolipids, *Arch. Dermatol. Res.*, 285, 415-417, 1993.
39. Mayrovitz H.N., Regan M.B., Gender differences in facial skin blood perfusion during basal and heated conditions determined by laser Doppler flowmetry, *Microvasc. Res.*, 45, 211-18, 1993.
40. Weitzmann M., N., Pacifici R., Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale, *J. Clin. Invest.*, 116, s. 1186-1194, 2006.

41. Leimola-Virtanen R., Salo T., Toikkanen S., Pulkkinen J., Syrjanen S.. Expression of estrogen reseptor (ER) in oral mucosa and salivary glands, *Maturitas*, 36, s. 131-137, 2000.
42. Whitaker, S.B., Bouquot, J.E., Identification and semi-quantification of estrogen and progesterone receptors in peripheral giant cell lesions of the jaws, *J. Periodontol* ., 65, s. 280-283, 1994.
43. Squier C.A., Hill M.V., Oral mucosa. "Oral histology, development, structure and function" (Ed. Cate A.R.T.)'da, 3th baskı, The Mosby Company, St Louis, s. 341-381, 1989.
44. Wentz M.W. ve dig. Age changes and sex diferences in the clinically normal gingiva. *J. Periodontol*, 23, s. 13- 24, 1952.
45. Brown A.M., Young A., The effects of age and smoking on the maturation of the oral mucosa, *Acta. Cytol.*, 14, s. 566-569, 1970.
46. Humprey S.P., Williamson R.T., A Review of Saliva: Normal Composition, Flow and Function, *J. Prosthet. Dent.*, 85, s.162-169, 2001.
47. Paganini-Hill A., The benefits of estrogen replacement therapy on oral health. The Leisure World cohort, *Arch. İnt. Med.*, 155, s. 2325-2329, 1995.
48. Seko K., Kagami H., Senga K., Ozeki K., Mizutani H., Ueda M., Effects of ovariectomy and estrogen replacement on rat oral mucosa, *Maturitas*, 50, 4-51, 2005.
49. Güncü G.N., Tözüm T.F., Çağlayan F., Effects of endogenous sex hormones on the periodontium-Review of literature, *Aust. Dent. J.*, 50, s. 138-145, 2005.

50. Newman M.G., Takei H.H., Carranza F.A., Periodontitis, "Carranza's Clinical Periodontology" (Ed. Carranza F.A.)'de, WB Saunders, United States of America, s. 67-9, 2002.
51. Basconez-Martinez A., Figuero-Rutz E., Periodontal diseases as bacterial infection, Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal., 9 Suppl, s. 75-91, 2004.
52. Loe H., Theilade E., Jensen B., Experimental gingivitis in man. Journal of Periodontology, 36, s. 177-187, 1965.
53. Matthews D.C., Smith C.G., Hanscom S.L., Tooth loss in periodontal patients, J. Can. Dent. Assoc., 67, s. 207-10, 2001.
54. Sollecito T.P., Sullivan K.E., Pinto A., Stewart J., Korostoff J., Systemic conditions associated with periodontitis in childhood and adolescence. A review of diagnostic possibilities, Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal., 10, s. 142-50, 2005.
55. Almas K., Al- Lazam S., Al- Quadairi A., The effect of oral hygiene instructions on diabetic type 2 male patients with periodontal diseases, J. Contemp. Dent. Prac., 3, s. 040-051, 2003.
56. Mascarenhas P., Gapski R, AL-Shammari K., Wang H.-L., Influence of sex hormones on the periodontium, J. Clin. Periodontol., 30, s. 671-681, 2003.
57. Armitage G., Development of a classification system for periodontal diseases and conditions, Ann. Periodontal, 4, s. 1-6, 1999.
58. Gornstein R.A., Lapp C.A., Bustos-Valdes S.M., Zamorano P., Androgens modulate interleukin-6 production by gingival fibroblasts in vitro, J. Periodontol., 70, s. 604-609, 1999.

59. Vittek J., Hernandez M.R., Wenk E.J., Rappaport S.C., Southern A.L., Specific estrogen receptors in human gingiva, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 54, s. 608-612, 1982.
60. Hofmann R., Lehmer A., Braun J., Bauer S., Activity of fagocytic granulocytes in patients with prostatic cancer, *Urol. Res.*, 14, s. 327-330, 1986.
61. Ito I., Hayashi T., Yamada K., Kuzuya M., Naito M., Iguchi A., Physiological concentration of estradiol inhibits polymorfonuclear leucocyte chemotaxis via a receptor mediated system, *Life Sci.*, 56, s. 2247-2253, 1995.
62. Reinhardt R.A., Payne J.B., Maze C.A., Patil K.D., Gallagher S.J., Mattson J.S., Influence of estrogen and osteopenia/ osteoporosis on clinical periodontitis in postmenopausal women, *Periodontol.*, 70, s. 823-828, 1999.
63. Kornman K.S., Loesche W.J., The subgingival microbial flora during pregnancy, *J. Periodontal Res.*, 15, s. 111-122, 1980.
64. Jensen J., Liljemark W., Bloomquist C., The effect of female sex hormones on subgingival plaque, *J. Periodontol.*, 52, s. 599-602, 1981.
65. Nakagawa S., Fujii H., Machida Y., Okuda K., A longitudinal study from prepuberty to puberty of gingivitis. Correlation between the occurrence of *Prevotella intermedia* and sex hormones, *J. Clin. Periodontol.* 21, s. 658-665, 1994.
66. Mombelli A., Lang N.P., Burgin W.B., Gusberti F.A., Microbial changes associated with the development of puberty gingivitis, *J. Periodontal Res.*, 25, s. 331-338, 1990.
67. Lindhe J., Attström R., Gingival exudation during the menstrual cycle, *J. Periodontal Res.*, 2, s. 194-198, 1967.

68. Holm-Pedersen P., Loe H., Flow of gingival exudate as related to menstruation and pregnancy, *J. Periodontal Res.* 2, s. 13-20, 1967.
69. Ferguson M.M., Carter J., Boyle P., An epidemiological study of factors associated with recurrent apthae in women, *J. Oral Med.*, 39,s. 212-217, 1984.
70. Mariotti A., Sex steroid hormones and cell dynamics in the periodontium, *Crit. Rev. in Oral Biol. and Med.*, 5, s. 27-53, 1994.
71. Segal A.L., Katcher A.H., Brightman V.J., Miller M.F., Recurrent herpes labialis, recurrent aphthous ulcers and the menstrual cycle, *J. Dent. Res.*, 53, s. 797-803, 1974.
72. Loe H., Periodontal changes in pregnancy, *J. Periodontol.*, 36, s. 209-217, 1965.
73. Yücetaş Ş., İyi huylu tümörler ve tümör benzeri lezyonlar, “Ağız ve Çevre Dokusu Hastalıkları”(Ed. Şule Yücetaş)’nda Atlas Kitapevi, Ankara, s. 228-229, 2005.
74. Ferris G.M., Alteration in female sex hormones: their effect on oral tissues and dental treatment, *Compend. Contin. Educ. Dent.*, 14, s.1558-1570, 1993.
75. Mealey B.L, Moritz A.J., Hormonal influences: effects of diabetes mellitus and endogenous female sex steroid hormones on the periodontium, *Periodontol* 2000, 32, s. 59-81, 2003.
76. Hugoson A., Gingivitis in pregnant women, *Odontol. Revy.*, 22, s. 65-84, 1971.
77. Tilakaratne A., Soory M., Ranasinghe A.W., Corea S.M.X., Ekanayake S.L., De Silva M., Effects of hormonal contraceptives on the periodontium, in a

- population of rural Sri-Lankan women, *J. Clin. Periodontol.*, 27, s. 753-757, 2000.
78. Lindhe J., Björn A., Influence of hormonal contraceptives on the gingivitis of women, *Periodontal Res*, 2, s. 1-6, 1967.
  79. Laufer N., Navot D., Schenker J.G., The pattern of luteal phase plasma progesterone and estradiol in fertile cycles, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, s. 143: 808-813, 1982.
  80. Groen J.J., Menzel J., Shapiro S., Chronic destructive periodontal disease in patients with presenile osteoporosis, *J. Periodontol.*, 39, s. 19-23, 1968.
  81. Trott J.R., A histological investigation into keratinisation found in human gingiva, *Br. Dent. J.*, 103, s. 421-427, 1957.
  82. Streckfus C.F., Baur U., Brown L.J., Bacal C., Metter J., Nick T., Effects of estrogen status and aging on salivary flow rates in healthy Caucasian women, *Gerontology* , 44, s. 32-39, 1998.
  83. Friedlander A.H., The physiology, medical management and oral implications of menopause, *J. Am. Dent. Assoc.*, 133, s. 73-81, 2002.
  84. Williams P.L., *Gray's Anatomy, The Anatomical Basis of Medicine and Surgery*. Churchill Livingstone, 38<sup>th</sup> Edition, s.1691-1700, 1995.
  85. Andrews N., Griffiths C., Dental complications of head and neck radiotherapy: Part 1, *Aust Dent J.*, 46, s. 88-94, 2001.
  86. Tenovuo J., Laine M., Söderling E., Irjala K., Evaluation of salivary markers during the menstrual cycle: peroxidase, protein, and electrolytes, *Biochem. Med.*, 25, s. 337-345, 1981.

87. Gomez E., Ortiz V., Saint-Martin B., Boeck L., Diaz-Sanches V., Bourges H., Hormonal regulation of the secretory Ig A system (sIgA): estradiol and progesterone induced changes in sIgA in parotid saliva along the menstrual cycle, *Am. J. Rep. Immunol.*, 29, s. 219-223, 1993.
88. Laine M., Leimola-Virtanen R., Effect of hormone replacement therapy on salivary buffre effect and pH in perimenopausal and postmenopausal women, *Arch. of Oral Biol.*, 41, s. 91-96, 1996.
89. Whitaker, S.B., Singh, B.B., Weller, R.N., Sex hormone receptor status of the dental pulp and lesions of pulpal origin, *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 87, s. 233-240, 1999.
90. Jukic, S., Prpic-Mehicic, G., Talan-Hranilove, J., Estrogen receptors in human pulp tissue, *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 95 , s. 340-344, 2003.
91. Lindhe A., The extracellüler matrix of the dental pulp and dentin, *J. Dent. Res.*, 64, s. 523-529, 1985.
92. Alaçam T., Uzel İ., Alaçam A., Aydın M., Pulpa ve periapikal dokuların biyolojisi, "Endodonti" (Ed. T Alaçam)' de, Barış Yayınları, Ankara, s. 17-45, 2000.
93. Garant P.R., Dentin, "Oral Cells and Tissues" (Ed. P.R. Garant)' da, Quintessence Publishing, Illinois, s. 25-53, 2003.
94. Okiji T., Jontell M., Belichenko P., Bergenhöltz g., Dahlström A., Perivascular dentritic cells of the human dental pulp, *Acta. Physiol. Scand.*, 159, s. 163-169, 1997.

95. Gulabivala K., Biological Basis of endodontics, "Color Atlas and Text of Endodontics"(Ed. C.J.R Stock, K Gulabivala, T. Walker, J.R. Goodman)' de, II. Baskı, Mosby-Wolfe, London, 1995.
96. Garant P.R., Dentin, "Oral Cells and Tissues" (Ed. P.R. Garant)' da, Quintessence Publishing, Illinois, s. 153-177, 2003.
97. Byers M.R., Narhi M.V.O., Nerve supply of the pulpodentin complex and responses to injury, "Seltzer and Bender's Dental Pulp" (Ed. K.M Hargreaves, H.E., Goodis)' da, Quintessence Publishing, Chicago, s. 151-181, 2002.
98. Magloire H., Joffre A., Bleicher F, An invitro model of human dental pulp repair, J. Dent. Res., 75, s. 1971-1978, 1996.
99. Larson P.A., Linde A., Adrenerjic vessel innervation in the rat incisor pulp, Scand J. Dent. Res., 79, s.7,1971.
100. Corpron R.E., Avery J.K., Lee S.D., Ultrastructure of capilleries in the odontoblastic layer. J. Dent. Res., 52, s. 393, 1973.
101. Love R.M., Jenkinson H.F., Invasion of dentinal tubules by oral bacteria, Crit. Rev. Oral Biol. Med., 13, s. 171-183, 2002.
102. Lundy F.T., Linden G.J., Neuropeptides and neurogenic mechanisms in oral and periodontal inflammation, Crit. Rev. Oral Biol. Med., 15, s. 82-98, 2004.
103. Hahn C.-L., Best A.M., Tew J.G., Cytokine Induction by Streptococcus mutans and pulpal pathogenesis, Infect. Immun., 68, s. 6785-6789, 2000.
104. Shimauchi H., Takayama S.-İ., Narikawa-Kiji M., Shimabukuro Y., Okada H., Production of interleukin-8 and nitric oxide in human periapical lesions, J. Endodon., 27, s.749-752, 2001.

105. Torabinejad M., Pulp and periradicular pathosis, "Principles and Practice of Endodontics" (Ed. R.E. Walton, M. Torabinejad)'da, III. Baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia, s. 28-48, 2002.
106. Baumgartner J.C., Pulpal infections including caries, "Seltzer and Bender's Dental Pulp" (Ed. K.M Hargreaves, H.E., Goodis)'da, Quintessence Publishing, Chicago, s. 281-307, 2002.
107. Alaçam T., Uzel İ., Alaçam A., Aydın M., Pulpa ve periapikal doku hastalıkları, "Endodonti" (Ed. T Alaçam)' de, Barış Yayınları, Ankara, s. 45-72, 2000.
108. Olgart L., Kerezoudis N.P., Nerve-pulp interactions, Archs. Oral Biol., 39, s. 47S-54S, 1994.
109. Olgart L.M., Edwall B., Gazelius B., Neurogenic Mediators in Control of Pulpal Blood Flow, J. Endodon., 15,s. 409-412, 1989.
110. Caviedes-Bucheli J., Lombana N., Azuero-Holguin M.M., Munoz H.R., Quantification of neuropeptides (calcitonin gene-related peptide, substance P., neurokinin A., Neuropeptide Y., and vasoactive intestinal polypeptide) expressed in healthy and inflamed human dental pulp, Int. Endod. J., 39, s. 394-400, 2006.
111. Wakisaka S., Neuropeptides in the Dental Pulp: Distribution, Origins and Correlation, 16, s. 67-69, 1990.
112. Waterhouse P.J., Whitworth J.M., Nunn J.H., Development of a method to detect and quantify prostaglandin E<sub>2</sub> in pulpal blood from cariously exposed, vital primary molar teeth, Int. Endod. J., 32, s. 381-387, 1999.

113. Eberhard J., Zahl A., Dommisch H., Winter J., Acil Y., Jepsen S., Heat shock induces the synthesis of the inflammatory mediator leukotriene B<sub>4</sub> in human pulp cells. *Int. Endod. J.*, 38, s. 882-888, 2005.
114. Di Maio F.-N., Lohinai Z., D'Arcangelo C.D., De Fazio P.E., Speranza L., De Lutiis M.A., Patruno A., Grili A., Felaco M., Nitric oxide synthase in healthy and inflamed human dental pulp, *J. Dent. Res.*, 83, s. 312-316, 2004.
115. Chu S.-C., Tsai C.H., Yang S.-F., Huang F.-M., Su Y.-F., Hsieh Y.-S., Chang Y.-C., Induction of vascular endothelial growth factor gene expression by proinflammatory cytokines in human pulp and gingival fibroblasts, *J. Endod.*, 30, s. 704-707, 2004.
116. Yang L.-C., tsai C.-H., Huang F.-M., Liu C.-M., Lai C.-C., Chang Y.-C., Induction of interleukin-6 gene expression by pro-inflammatory cytokines and black-pigmented Bacteriodes in human pulp cell cultures, *Int. Endod. J.*, 36, s. 352-357, 2003.
117. Sawa Y., Yoshida S., Shibata K.-I., Suziki M., Mukaida A., Vascular endothelium of human dental pulp expresses diverse adhesion molecules for leukocyte emigration, *tissue and cell*, 30, 281-291, 1998.
118. Hargreaves K.M., Swift J.Q., roszkowski M.T., Bowles W., Garry M.G., Jackson D.L., Pharmacology of peripheral neuropeptide and inflammatory mediator release, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 78, s. 503-510, 1994.
119. Hargreaves H.E., Pain mechanisms of the pulpodentin complex, "Seltzer and Bender's Dental Pulp" (Ed. K.M Hargreaves, H.E., Goodis)'da, Quintessence Publishing, Chicago, s. 181-203, 2002.
120. Byers M., Taylor P., Khayat B., Kimberly C., Effects of injury and inflammation on pulpal and periapical nerves. *J. Endod.*, 16, s. 78-84, 1990.

121. Rowe A., Pitt Ford T., The assessment of pulp vitality, *Int. Endod. J.*, 23,s. 77-83, 1990.
122. Köseoğlu M., Üremenin endokrin işlevi, “Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler” (Ed. D. Aslan)’de, Palme Yayıncılık, Ankara, s. 876-897, 2005.
123. Landi N., Lombardi I., Manfredini D., Casarosa E., Biondi K., Gabbanini M., Bosco M., Sexual hormone serum levels and temporomndibular disorders. A preliminary study, *Gynecol. Endoc.*, 20, s. 99-103, 2005.
124. Chang YC, Yang SF, Huang FM, Tai KW, Hisieh YS. Induction of tissue plasminogen activator gene expression by proinflammatory cytokines in human pulp and gingival fibroblasts. *J Endod.*, 29, 118-20, 2003.
125. Chang Y.C., Yang S.F., Huang F.M., Liu C.M., Tai K.W., Hsieh Y.S., Proinflammatory cytokines induce cyclooxygenase-2 mRNA and protein expression in human pulp cell cultures, *J. Endod.*, 29, s. 201-4, 2003.
126. Coil J., Tam E., Waterfield J.D., Proinflammatory cytokine profiles in pulp fibroblasts stimulated with lipopolisaccaride and methyl mercaptan, *J. Endod.*, 30, s. 88-91, 2004.
127. Tuncer L.I., Lee J.I., Baek S.H., Lim S.S., Substance P expression in elevated in inflamed human periradicular tissue, *J. Endod.*, 30, s. 329-32, 2004.
128. Geisler J., Berntsen H., Lonning P.E., A novel HPLC-RIA method for the simultaneous detection of estrone, estradiol and estrone sulphate levels in breast cancer tissue, *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 72, s. 259-264, 2000.

129. Van Landaghem A.A.J., Poortman J., Helmond-Agema A., Thijssen J.H.H., Measurement of endogenous subcellular concentration of steroids in tissue, *J. Steroid Biochem.*, 20, s. 639-644, 1984.
130. Yue W., Berstein L.V., Wang J.P., Clark G.M., Hamilton C.J., Demers L.M., Santen R.J., The potential role of estrogen in aromatase in the breast. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 79, s. 157-164, 2001.
131. Lotz M., Vaughan J.H., Carson D.A., Effect of neuropeptides on production of inflammatory cytokines by human monocytes, *Science*, 241, s. 1218-21, 1988.
132. Raap T., Justen H.P., Miller L.E., Cutolo M., Scholmerich J., Straub R.H., Neurotransmitter modulation of interleukin-6 (IL-6) and IL-8 secretion of synovial fibroblasts in patients with rheumatoid arthritis compared to osteoarthritis, *J. Rheumatol.*, 27, s. 2558-65, 2000.
133. Yamaguchi M., Kojima T., Kanekawa M., Aihara N., Nogimura A., Kasai K., Neuropeptides stimulate production of interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6, and tumor necrosis factor- $\alpha$  in human dental pulp cells, *Inflamm. Res.*, 53, s. 199-204, 2004.
134. H. Gusman., R.B. Santana., M. Zehnder., Matrix metalloproteinase levels and gelatinolytic activity in clinically healthy and inflamed human dental pulps, *Eur. J. Oral Sci.*, 110, s. 353-357, 2002.
135. Schonbeck U., Mach F., Libby P., Generation of biologically active IL-1 $\beta$  by matrix metalloproteinases: a novel caspase-1-independent pathway of IL-1 $\beta$  processing, *J. Immunol.*, 161, s. 3340-3346, 1998.
136. Barkhordar R.A., Ghani Q.P., Russel T.R., Hussain M.Z., Interleukin-1 beta activity and collagen synthesis in human dental pulp fibroblasts, *J. Endod.*, 28, s. 157-9, 2002.

137. Kim H.S., Shang T, Chen Z., TGF-beta1 stimulates production of gelatinase (MMP-9), collagenases (MMP-1, -13) and stromelysins (MMP-3,-10,-11) by human corneal epithelial cells, *Exp. Eye. Res.*, 73, s. 449-459, 2001.
138. Kumar A., Zhang J., Yu F.S., Innate immune response of corneal epithelial cells to staphylococcus aureus infection: role of peptidoglycan in stimulating proinflammatory cytokine secretion, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 45, s. 3513-3522, 2004.
139. Pivrotto LA, Cissel DS, Keeting PE. Sex hormones mediate interleukin-1 beta production by human osteoblastic HOBIT cells. *Mol Cell Endocrinol.*, 111, 67-74, 1995.
140. Bengtsson A.K., Ryan E.J., Giordano D., 17- $\beta$  estradiol (E2) modulates cytokine and chemokine expression in human monocyte-derived dendritic cells. *Blood*, 104, s. 1404- 1410, 2004.
141. Kanda N., Watanabe S., 17 $\beta$  estradiol enhances the production of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in human keratinocytes, *J. Invest. Dermatol.*, 123, s. 329-337, 2004.
142. Suzuki T., Sullivan D.A., Estrogen stimulation of proinflammatory cytokine and matrix metalloproteinase gene expression in human corneal epithelial cells, *Cornea*, 24, s. 1004-1009, 2005.
143. Jacob F., Siggelkow, Homann D., Local estradiol metabolism in osteoblast-and osteoclast-like cells, *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 61, s. 167- 174, 1997.
144. Schaumberg D.A., Buring J.E., Sullivan D.A., Hormone replacement therapy and the prevalence of dry eye syndrome, *JAMA*, s. 2114-2119, 2001.

145. Midelfart A., Women and men-same eyes?, *Acta. Ophthalmol. Scand.*, 74, s. 589-592, 1996.
146. Torabinejad M., Bakland L.K., Prostaglandins, their possible role in the pathogenesis of pulpal and periapical diseases, part 1, *J. Endodont.*, 6a, s. 733–739, 1980.
147. Torabinejad M., Bakland L.K., Prostaglandins their possible role in the pathogenesis of pulpal and periapical diseases, part 2., *J. Endodont.*, 6 b, s. 769–776, 1980.
148. Okiji T., Morita I., Sunada I., Murota S., Involvement of arachidonic acid metabolites in increases in vascular permeability in experimental dental pulpal inflammation in the rat, *Arch. Oral Biol.*, 34, s. 523–528, 1989.
149. Hamada S., Takada H., Ogawa T., Fujita T., Mihara J., Lipopolysaccharides of oral anaerobes associated with chronic inflammation: chemical and immunomodulating properties, *Intern. Rev. Immunol.*, 6, s. 247—61, 1990.
150. Watanabe M., Tabata T., Huh J.I., Inai T., Tsuboi A., Sasaki K., Endo Y., Possible involvement of histamine in muscular fatigue in temporomandibular disorders: animal and human studies, *J. Dent. Res.*, 78, s. 769-75, 1999.
151. Schayer R.W., Relationship of induced histidine decarboxylase activity and histamine synthesis to shock from stress and from endotoxin, *Am. J. Physiol.* 198, s. 1187- 92, 1960.
152. Shoji N., Yoshida A., Yu Z., Endo Y., Sasano T., Lipopolysaccharide stimulates histamine-forming enzyme (histidine decarboxylase) activity in murine dental pulp and gingiva, *Arch. Oral Biol.*, (article in pres), 2006.

153. Miller V.M., Li L., Sieck G.C., Endothelium-dependent effects of estrogen on vasomotor tone, Consequences of nongenomic actions. *Vascular Pharmacology*, 38, s. 109- 113, 2002.
154. Beeson P.B., Age and sex associations of 40 autoimmune diseases, *Am. J. Med.*, 96, s. 457-462, 1994.
155. Whitacre C.C., Sex differences in autoimmune disease, *Nat. Immunol.*, 2, s. 777-780, 2001.
156. Garant P.R., Dentin, "Oral Cells and Tissues" (Ed. P.R. Garant)' da, Quintessence Publishing, Illinois, s. 239-269, 2003.
157. Gonzales-Flores O., Sanchez N., Garcia-Juarez M., Lima-hernandez F.J., Gonzalez-Mariscal G., Beyer C., Estradiol and testosterone modulate the anesthetic action of the GABA-A agonist THIP, but not of the neurosteroid  $3\alpha$ ,  $5\beta$ -pregnolone in the rat, *Psychopharmacol.*, 172, 283-290, 2004.
158. Wurm C., Richardson J.D., Bowles B., Hargreaves K.M., Evaluation of functional GABA<sub>B</sub> Receptors in Dental Pulp, *J. Endodon.*, 27, s. 620-623, 2001.
159. Yıldırım M. Menstrüel siklus, "Klinik Jinekoloji" (Ed. Yıldırım M)'de, Yargıçoğlu Matbaası, Ankara, s. 82- 85, 1985.
160. Machtei E.E., Mahler D., Sanduri H., Peled M., The effect of menstrual cycle on periodontal health, *J. Periodontol*, 75, s. 408-412, 2004.
161. Koreeda N., Iwano Y., Kishida M., Otsuka A., Periodic exacerbation of gingival inflammation during the menstrual cycle, *J. Oral Sci.*, 47, s. 159-164, 2005.

162. Angstwurm M.W., Gartner R., Ziegler-Heitbrock H.W., Cyclic plasma IL-6 levels during normal menstrual cycle, *Cytokine*, 9, s. 370-374, 1997.
163. Chandler N.P., Pitt-Ford T.R., Monteith B.D., Coronal pulp size in molars: a study of bitewing radiographs, *Int. Endod. J.*, 36, s. 757-763, 2003.
164. Fanibunda K.B., A method of measuring the volume of human dental pulp cavities, *Int. Endod. J.*, 19, s. 194-7, 1986.
165. Erdin E., Hegemann W., Emiralioğlu A., Alten A., Endokrin maddeler ve çevresel etkileri, *Çevre* 2004, 1. Ulusal Çevre Kongresi (13-15 Ekim 2004).
166. Coelho A.J.M., Endocrine disruptors and dental materials: health implications associated with their use in Brazil, *Cad. Saude Publica*, 18, s. 505-509, 2002.
167. Takahashi A., Higashino F., Aoyagi M., Kyo S., Nakata T., Mamuro N., Shindoh M., Kohgo T., Sano H., Bisphenol A from dental polycarbonate crown upregulates the expression of HTERT, *J. Biomed. Mater. Res.*, 71, s. 214-221, 2004
168. Arenholt-Bindslev D., Breinholt V., Preiss A., Schmalz G., Time- related bisphenol-A content and estrogenic activity in saliva samples collected in relation to placement of fissure sealents, *Clin. Oral Invest.*, 3, s. 120-125, 1999.