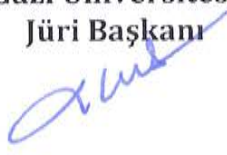


GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

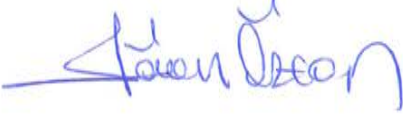
Periodontoloji Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 11.04/2013

İmza
Prof. Dr. İ. Levent TANER
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof.Dr.Göner ÖZCAN
Gazi Üniversitesi



Prof. Dr. Nurdan ÖZMERİÇ
Gazi Üniversitesi



Prof. Dr. Işıl SAYGUN
Gölhane Askeri Tıp
Akademisi



Prof. Dr. Berrin ÜNSAL
Gazi Üniversitesi



İÇİNDEKİLER

Kabul ve onay	I
İçindekiler	II
Şekiller	IV
Tablolar	VI
Resimler	VII
Kısaltmalar	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS)	5
2.2. Sitokinler	6
2.2.1. IL-1 β ve Periodontal Hastalıklardaki Rolü	7
2.2.2. IL-17 ve Periodontal Hastalıklardaki Rolü	8
2.2.3 OPG/RANKL ve Periodontal Hastalıklardaki Rolü	10
2.3. Periodontal Kemik Lezyonlarının Etiyolojisi, Tanı ve Tedavisi	20
2.3.1. Kemik defektlerinin sınıflandırılması ve teşhisi	20
2.3.2. Periodontal Tedavi	24
2.3.3. Kemik greftleri	29
2.3.4. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR)	36
2.3.5. Trombositten Zengin Plazma (TZP)	38
2.3.5.1. Plateletler ve trombositten zengin plazma	41
2.3.5.2. TZP'nin Sert Dokuda İyileşmeye Etkisi	46
2.3.5.3. TZP'nin Yumuşak Dokuda İyileşmeye Etkisi	48
2.4. Periodontal Rejeneratif Tedavinin Sonuçlarının Değerlendirilmesi	49
3.GEREÇ VE YÖNTEM	52
3.1. Hastaların Periodontal Durumlarının Klinik ve Radyografik Değerlendirilmesi	54
3.2. Diş eti oluğu sıvısı örneklerinin alınması ve laboratuvar işlemleri	58

3.2.1 DOS'ta İnterlökin-1 β Miktarının Belirlenmesi	59
3.2.1.1 Test Prensipleri	59
3.2.1.2. Laboratuvar İşlemleri	60
3.3.PRP'nin hazırlanması	61
3.4. Cerrahi Protokol	65
3.4.1. Post operatif Bakım	67
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	68
4. BULGULAR	70
4.1. Klinik Bulgular	70
4.2. İmmünolojik Bulgular	78
4.3. Radyolojik Bulgular	87
4.4. Klinik, radyografik ve immünolojik ölçümler arasındaki ilişki miktarları (korelasyonlar)	92
5. TARTIŞMA	97
6. SONUÇLAR	123
7.ÖZET	126
8.SUMMARY	128
9.KAYNAKLAR	130
10. ÖZGEÇMİŞ	164
11. TEŞEKKÜR	165
12. ETİK KURUL KARARI	167

ŞEKİLLER

Şekil 1: IL-1 β 'nin lenfositleri stimüle etmesi sonucu bakteri, yumuşak doku ve kemik dokusunda hasar meydana gelmesi

Şekil 2: OPG/ RANK/ RANKL mekanizması

Şekil 3: Osteoklast farklılaşmasında RANKL'ın rolü

Şekil 4: OPG, RANK ve RANKL'ın kemik yapım ve yıkımındaki rolü

Şekil 5: **a.** OPG eksikliği olan farelerdeki kemik yapısı, **b.** Sağlıklı farelerde kemik yapısı, **c.** Artmış OPG üretimi olan farelerde kemik yapısı

Şekil 6: OPG eksikliği olan farelerde RANK Ligand aktivitesine bağlı uzun kemiklerde kırılma

Şekil 7: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama CD değerlerinin değişimi

Şekil 8: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama PI değerlerinin değişimi

Şekil 9: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama GI değerlerinin değişimi

Şekil 10: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama DEÇ değerlerinin değişimi

Şekil 11: Test ve Kontrol bölgelerindeki ortalama KAS değerlerinin değişimi

Şekil 12: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama SK değerlerinin değişimi

Şekil 13: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama DOS değerlerinin değişimi

Şekil 14: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama OPG total miktarlarının değişimi

Şekil 15: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama OPG konsantrasyonlarının değişimi

Şekil 16: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama IL-1 β total miktarlarının değişimi

Şekil 17: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama IL-1 β konsantrasyonlarının değişimi

Şekil 18: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama IL-17 total miktarlarının değişimi

Şekil 19: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama IL-17 konsantrasyonlarının değişimi

Şekil 20: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama MSS-DT değerlerinin değişimi

Şekil 21: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama AK-DT değerlerinin değişimi

Şekil 22: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama defekt açısı değerlerinin değişimi

TABLÖLAR

Tablo1: Gruplar arasındaki farkın 1, 2 ve 3 mm olduğu durumlar için güç analizi sonuçları

Tablo 2: Test ve kontrol gruplarında klinik değişkenler (Başlangıç)

Tablo 3: Test ve kontrol gruplarında klinik değişkenler (3. ay)

Tablo 4: Test ve kontrol gruplarında klinik değişkenler (6.ay)

Tablo 5: Test grubunda klinik değişkenler

Tablo 6: Kontrol grubunda klinik değişkenler

Tablo 7: Test ve kontrol gruplarında immünolojik değişkenler (Başlangıç)

Tablo 8: Test ve kontrol gruplarında immünolojik değişkenler (3. Ay)

Tablo 9: Test ve kontrol gruplarında immünolojik değişkenler (6. ay)

Tablo 10: Test grubunda immünolojik değişkenler

Tablo 11: Kontrol grubunda immünolojik değişkenler

Tablo 12: Test ve kontrol gruplarında radyografik değişkenler (Başlangıç)

Tablo 13: Test ve kontrol gruplarında radyografik değişkenler (3. ay)

Tablo 14: Test ve kontrol gruplarında radyografik değişkenler (6. ay)

Tablo15: Test grubu radyografik değişkenler

Tablo 16: Kontrol grubu radyografik değişkenler

RESİMLER

Resim 1: Uzun kon paralel tekniği ile periapikal radyografilerin elde edilmesi

Resim 2: Dijital radyografi sensörü

Resim 3: Röntgen cihazı

Resim 4 : Elastomerik ölçü maddesi

Resim 5: Silikon ısırma stendi

Resim 6: Anatomik sınırlar, MSS: Mine-sement sınırı,AK: Alveoler kret tepesi, DT: Defekt tabanı

Resim 7: Radyografi üzerinde doğrusal ölçümlerin yapılması

Resim 8: Test grubu başlangıç radyografisi

Resim 9: Test grubu 3. ay radyografisi

Resim 10: Test grubu 6. ay radyografisi

Resim 11: Kontrol grubu başlangıç radyografisi

Resim 12: Kontrol grubu 3. ay radyografisi

Resim 13: Kontrol grubu 6. ay radyografisi

Resim 14: Mikrokuyucuklara substrat solusyonu uygulanması

Resim 15: Mikrokuyucuklara durdurma solusyonu uygulanması

Resim 16: Tek kullanımlık monovet ve enjektör setleri

Resim 17: Hastadan venöz kanın alınması

Resim 18: Alınan kanın sitratlı monovetin içinde yerini alması

Resim 19: Kan içeren monovetin santrifüj içine yerleştirilmesi

Resim 20: İlk santrifügasyon

Resim 21: Trombositten zengin ve fakir plazmanın sarı monovete alınması

Resim 22: Sarı monovette elde edilen plazma

Resim 23: İkinci santrifügasyon

Resim 24: Mavi monovet ile trombositten fakir plazmanın uzaklaştırılması

Resim 25: Trombositten zengin plazmanın vortekte karıştırılması

Resim 26: Trombositten zengin plazmanın yeşil enjektöre alınması

Resim 27: TZP'nin greft ile karıştırılarak uygulanması

Resim 28: Kemik içi defektin görünümü (Test grubu)

Resim 29: Greftin kemik içi defekte yerleştirilmesi (Test grubu)

Resim 30: Kemik içi defektin görünümü (Kontrol grubu)

Resim 31: Greftin kemik içi defekte yerleştirilmesi (Kontrol grubu)

Resim 32: Operasyon bölgelerinin sütürlenerek kapatılması

KISALTMALAR

TZP: Trombositten Zengin Plazma

OPG: Osteoprotegerin

RANK : Reseptör aktivator nükleer faktör kappa B

RANKL: Reseptör aktivator nükleer faktör kappa B ligandı

DOS: Diş eti oluğu sıvısı

IL-1 β : İnterlökin 1 beta

IL-17: İnterlökin 17

IL-1 α : İnterlökin-1 alfa

IL-6: İnterlökin-6

PGE2: Prostoglandin E2

TNF- α : Tümör nekroz faktör alfa

IFN- γ : İnterferon gamma

ENAP: Yeni ataşman işlemi

β -TCP: Beta trikalsiyum fosfat

YDR: Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu

PDGF: Platelet derived growth factor (platelet kaynaklı büyüme faktörü)

VEGF: Damarsal endotelial growth factor (vasküler endotelal büyüme faktörü)

IGF: İnsulin like growth factor (insülin benzeri büyüme faktörü)

EGF: Endotelial growth factor (endotelial growth factor, EGF)

FGF: Fibroblast growth factor (fibroblast büyüme faktörü)

PI: Plak indeksi

GI : Gingival indeks

CD: Cep derinliği

KAS: Klinik ataşman seviyesi

DEÇ: Dişeti çekilmesi

SK: Sondlamada kanama

DT: Defekt tabanı

MSS: Mine-sement sınırı

AK: Alveoler kret tepesi

DA: Defekt açısı

DDR: Direkt dijital radyografi

HRP: Streptavidin-horseradish peroxidase

CFU-M: Makrofaj koloni stimüle edici faktör

1. GİRİŞ

Dişin destek dokularında meydana gelen yıkım ile karakterize¹ periodontitiste enflamasyonun ilerlemesi ile² horizontal ve vertikal kemik kayıpları ortaya çıkmaktadır. Alveol kemikte oluşan vertikal tarzdaki yıkımlar ise diş kaybı açısından önemli bir risk faktörü olan kemik içi defektlerin oluşmasına neden olmaktadır.³

Periodontal tedavi ile mikrobiyal etiyoloji ve periodontitisle ilgili risk faktörlerini kontrol altına alarak, enfeksiyonun ilerleyişini durdurmak ve hasar görmüş dokuların sağlıklı durumlarına geri dönmeleri amaçlanmaktadır.^{1,4-6} Periodontitis sonucu meydana gelen kemik kayıplarının tedavisinde artmış cep derinliği sonucu etkisi sınırlanan cerrahi olmayan periodontal tedavi yetersiz kaldığı için cerrahi işlemlere gerek duyulmaktadır.^{1,7-9}

Sığ periodontal cep elde edilmesine yönelik rezektif işlemler son yıllarda yerini kaybedilen dokuların yeniden oluşturulmasının hedeflendiği rejeneratif tedavilere bırakmaya başlamıştır.¹⁰ Bu amaçla günümüzde çeşitli kemik greftleri ve membranlar gibi birçok biyomateriyal periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde aktif olarak kullanılmaktadır.⁵ Otojen kemik greftleri osteoindüktif özellikleri ve biyolojik uyumluluklarının mükemmel oluşu ile “altın standart” olarak kabul edilse de ikinci bir operasyon bölgesi ve beraberinde komplikasyon riski yaratması nedeniyle osteokondüktif özellikteki alloplastik ve ksenojenik kemik greftleri periodontal rejeneratif tedavide tercih edilen materyaller olarak karşımıza çıkmaktadır.¹¹⁻¹⁵

Son yıllarda bu amaçla büyüme faktörleri, mine matriks proteinleri ve kemik morfogenetik proteinleri gibi alternatif yöntemlerin rejeneratif periodontal uygulamalarda kullanılabileceği düşünülmüş ve büyüme faktörlerini içeren “trombositten zengin plazma (TZP)” kemik içi defektlerde rejenerasyonu artırmak amacıyla kullanılmaya başlanmıştır.¹⁶⁻¹⁸ Otojen olarak elde edildiği için hastalık bulaşma ve immünolojik reaksiyon oluşturma riski taşımayan TZP’nin yara bölgesinde trombosit konsantrasyonunu ve PDGF,TGF- β 1 gibi büyüme faktörlerinin konsantrasyonlarını artırdığı bildirilmiştir. Trombosit konsantrasyonunun artırılması esasına dayalı bir mekanizması olan TZP’nin içindeki fibrinojenin trombosit ile aktive olarak fibrin ağı oluşturduğu ve jelöz kıvama gelerek greftle karıştırıldığında greft partiküllerini bir arada tutarak greft manipülasyonunu kolaylaştırdığı ve kök yüzeyine yapışarak epitel ve bağ dokusu hücrelerinin apikale migrasyonunu engellediği ileri sürülmüştür.^{17,19} Yapılan çalışmalarda birçok greft materyali ve membran ile birlikte kullanılan TZP ve oluşturması beklenen rejenerasyon ile ilgili çelişkili sonuçlar bildirilmiştir.^{16,17,20,21}

Periodontal hastalık patogenezin ve kemik yapım yıkım mekanizmasına osteoprotegerin (OPG), reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B (RANK) ve reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B ligandı (RANKL)’ın keşfi yeni bir bakış açısı kazandırmıştır.²²⁻²⁵ Günümüzde bu üçlünün periodontal dokularda ve diş eti oluşu sıvısında (DOS) varlıkları, miktarları ve IL-1 β ve IL-17 gibi sitokinlerle etkileşimleri araştırılarak periodontitis patogenezin ve doku yıkım mekanizmalarına ilişkin yeni bilgilere ulaşılmaya çalışılmaktadır.^{26,27}

Literatür incelendiğinde periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde TZIP'nin sığır kaynaklı kemik grefti ile birlikte uygulandığı çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edildiğı tespit edilmekle birlikte, tedavinin etkinliğinin klinik, radyolojik ve immünolojik açıdan incelenerek değerlendirildiğı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu bilgilerin ışığında, kronik periodontitisli bireylerde tespit edilen bilateral kemik içi defektlerin tedavisinde kontrol bölgesine Bio-Oss (sığır kaynaklı kemik grefti), test bölgesine TZIP/Bio-Oss kombinasyonu uygulamasının 3 ve 6. aydaki etkinliğinin klinik, standart radyografik ve DOS kaynaklı OPG, RANKL, IL-1 β ve IL-17 gibi immünolojik değişkenlerin karşılaştırmalı analizi ile değerlendirilmesi bu çalışmanın amacını oluşturmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

Periodonsiyum; dişeti, alveoli kemiği, periodontal ligament ve sementten oluşan ve dişi destekleyen bir yapıdır. Bu yapıyı etkileyerek hasar oluşturan hastalıklar “periodontal hastalıklar” olarak adlandırılmaktadır. Periodontal hastalıklar sonucu meydana gelen diş kaybı estetik ve fonksiyonel açıdan büyük sorunlara neden olmaktadır. Bakteriyel enfeksiyöz karakterli periodontal hastalıklardan en yaygın gözlenen gingivitis ve periodontitistir.²⁸

Mikrobiyal dental plağa karşı verilen inflamatuvar yanıt, dişetinde kanama, eritem ve ödem gibi klinik belirtiler ile karakterize gingivitiste geri dönüşümlü doku hasarı gözlenmekle iken periodontitiste geri dönüşümsüz bir doku kaybı gözlenmektedir.^{29,30}

Periodontitis, mikrobiyal dental plak varlığında diş etinde başlayan iltihabi reaksiyonun tedavi edilmediği takdirde dişin destek dokularına yayılmasıyla, kök yüzeyindeki bağ doku ataşmanı yıkımı, patolojik cep oluşumu ve alveol kemik kaybına bağlı diş kayıpları ile karakterize enfeksiyöz bir hastalıktır.^{2,31-33}

Günümüzde mikrobiyal dental plak hastalığının temel nedeni olarak gösterilmesine rağmen hastalığının patogenezinin tam olarak açıklanmasında yetersiz kaldığı görülmüştür.³⁴ Hastalığının ilerleyebilmesi için bakterilerin yanında konak savunma mekanizmalarının da son derece önemli olduğu görülmüştür.³⁵ Mikroorganizmalar, inflamatuvar hücreler ve çeşitli sitokinler aracılığı ile uyarılan konak cevabı periodontal destek dokulardaki kayıpların en önemli belirleyicileri olarak sorumlu

tutulmuşlardır.³⁶⁻³⁸ Periodontal hastalığın izlenmesi, yıkım aşamalarının açıklanabilmesi ve kontrol edilebilmesi amacıyla belirleyici göstergelerin arayışı periodontolojinin başlıca konularından biri durumuna gelmiştir. Ancak klinik ölçümler hastalığın şiddeti hakkında bilgi vermesine rağmen aktivasyon durumunu belirlemede yetersiz kalınca serum, diş eti oluşu sıvısı (DOS) ve tükürük örneklerinde mikrobiyolojik, immünolojik ve biyokimyasal yöntemler uygulanmaya başlanmıştır.³⁷

2.1. Dişeti Oluşu Sıvısı (DOS)

Doku yıkım ürünleri, bakteriler ve ürünleri ile iltihabi mediatörlerin araştırılıp tanımlanmasında için tükürük, kan, plak, diş eti dokusu ve diş eti oluşu sıvısı (DOS) kullanılmaktadır.^{39,40} Esas olarak kan plazmasından kaynaklanan DOS⁴¹, diş ve diş eti kenarı arasındaki sulkus ve periodontal cepte bulunmakta ve içeriğindeki moleküller ile periodontal durumun belirleyicisi eksuda olarak tanımlanmaktadır.^{42,43} DOS' de doku yıkım ürünleri, iltihabi mediatörler, bakteriler ve ürünleri araştırılmış ve konak (PMNL) veya bakteri kaynaklı lizozomal enzimler, organik bileşikler ve hücresel elementlerden oluştuğu görülmüştür.^{44,45}

Periodontal sağlık durumunda sulkusta çok az miktarda DOS olduğu, subklinik iltihabi reaksiyonun başlaması ile arttığı görülmüştür.^{41,46,47} Bu yüzden DOS iltihabi bir sıvı olarak kabul edilmiştir.^{43,47} Son yıllarda yapılan çalışmalarda DOS' nin mikrobiyal dental plak bakterileri ve konak doku cevabına ait ürünleri içermesinin tespitiyle⁴⁸⁻⁵⁰ immün yanıt, periodontal hastalık patogenezi ve akut iltihabi cevap hakkında önemli veriler elde edilmiştir.^{49,51} Bu sıvının analizi ile periodontal hastalığa yatkınlık riski, prognozun belirlenmesi ve tedavinin izlenebilmesi gibi önemli sorulara cevap bulunabileceği düşünülmüştür.⁵²⁻⁵⁴ Sitokinler bu

soruların cevapları olabilecek potansiyele sahip belirteçler olarak kendine önemli bir yer bulmuş iltihabi mediatörlerdir.

2.2. Sitokinler

Sitokinler, hedef hücreler üzerindeki spesifik reseptörlere bağlanarak hücre içi mesaj yollarını başlatarak hücrelerde fenotipik değişimlere neden olan proteinlerdir. Geçici olarak düşük miktarlarda üretilmekte ve otokrin (üretildiği hücre üzerinde etkinlik) veya parakrin (komşu hücreler üzerinde etkinlik) olmak üzere birçok hücrede etkinlik göstermektedirler. Periodontal hastalıkta sitokinler inflamasyon ve immünitinin başlamasında, şiddetinin belirlenmesinde oldukça önemli rol oynamaktadırlar.⁵⁵ Hücreler arası haberleşmeden sorumlu oldukları için proliferasyon, diferansiasyon ve rejenerasyon ve inflamasyon gibi hücresel olaylarda çok önemli yer tutmaktadırlar.⁵⁶

Günümüze kadar pek çok sitokin tanımlanmış ve yalnızca immün sistem hücrelerince salgılanmadıkları; fibroblast, endotelial ve epitelyal hücrelerinde de salındıkları tespit edilmiştir.⁵⁷

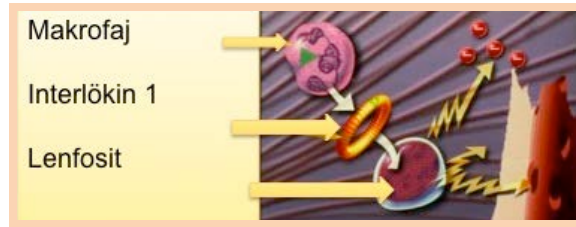
Etki mekanizmalarına göre ⁵⁸

1. Proinflamatuvar-antiinflamatuvar sitokinler (IL-1,TGF- β , vb)
2. İmmün cevabı düzenleyen sitokinler (IL-17,IL-11,vb)
3. Büyüme faktörleri
4. Koloni stimüle edici faktörler şeklinde sınıflandırılmaktadırlar.

Periodontal hastalıklarda doku yıkımı, patojen bakterilere karşı oluşan konak cevabı sonucu ortaya çıkmaktadır. Lökositlerin ilgili bölgeye toplanması ve inflamatuvar mediatörleri ile sitokinleri salgılaması sonucu konak yanıtı başlamaktadır.⁵⁶

2.2.1. IL-1 β ve Periodontal Hastalıklardaki Rolü

IL-1 β 'nın periodontal hastalıklarda meydana gelen inflamasyonla ilgili birçok olayda stimulatör rolü oynadığı yıllardır kabul edilmiş ve adezyon molekülleri ve diğer mediatörlerin indüklenmesi, inflamatuvar cevabın güçlendirilmesi, matriks metalloproteinazların stimüle edilmesi ve kemik yıkımından sorumlu molekül olduğu gösterilmiştir. Periodontal hastalığa özgü kemik yıkımı ve ataşman kaybında bu sitokinin önemli rol oynadığı bilinmektedir.⁵⁹



Şekil 1: IL-1 β 'nin lenfositleri stimüle etmesi sonucu bakteri, yumuşak doku ve kemik dokusunda hasar meydana gelmesi

IL-1 β 'nın periodontal hastalıktaki rolünün belirlenmesi için çalışmalar halen devam etmektedir. Deneysel gingivitis oluşturularak IL-1 β 'nin seviyesinin araştırıldığı çalışmalarda periodontal enfeksiyonun başlaması ile IL-1 β 'nin seviyesinin arttığı, biyofilmin ortadan kaldırıldığı durumda ise düştüğü gözlenmiştir.⁶⁰⁻⁶³

IL-1 β 'nın kemik rezorpsiyonu ve doku yıkımı üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda ise periodontitisli bireylerde IL-1 β seviyesinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek seviyede olduğu görülmüştür.⁶⁴⁻⁶⁸ Periodontal tedavi sonrası ise bu seviyelerin düştüğü bildirilmiştir.⁶⁹⁻⁷² Periodontitisli bireylerde gingivitisli bireylere göre daha yüksek seviyede olduğunun tespit edilmesi de doku yıkımı ile ilişkili olduğunu ispatlamıştır.^{71,73-77}

Bu bilgilerin ışığında IL-1 β klinik verilerin dışında periodontal hastalığın prognozu ve patogenezinin değerlendirilmesinde kullanılabilecek önemli bir parametre olarak karşımıza çıkmaktadır.

2.2.2. IL-17 ve Periodontal Hastalıklardaki Rolü

Günümüzde devam eden sitokin araştırmalarında tanımlanan en yeni grup IL-17 süper-ailesidir.⁷⁸ IL-17 yeni bir yardımcı T hücresi olarak tanımlanan Th17 hücrelerince salgılanan ve otoimmün yanıtı neden olabilecek kadar yüksek seviyede proinflamatuvar etkisi olan bir sitokindir.

IL-17 üretiminden sorumlu Th17 hücreleri, IL-4, IL-6, IL-10 gibi hümmoral immün yanıtı sorumlu sitokinleri salgılayan yardımcı T hücresi Th2'nin bir alt grubu olarak tanımlanmıştır. Bu hücrelerin transforming growth factor-beta (TGF- β) ve IL-1 β varlığında ortaya çıktıkları, ayrıca proinflamatuvar cevabı arttırdıkları ve otoimmüniteyi

tetikledikleri tespit edilmiştir.^{27,79,80} Liang ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmalarında IL-17'nin IL-6, TNF- α gibi sitokinlerin sentezini tetiklediğini bildirmişlerdir.⁸¹

IL-17'nin endotelyal ve fibroblastik hücreleri, IL-6, IL-8 ve PGE₂ salınımı yapılması için uyardığı ve osteoblastlar aracılığıyla kemik yıkımı aktivasyonu ile ilişkili olan nükleer factor kappa B'nin reseptör aktivatörünün (RANK) üretimini indüklediği gösterilmiştir.²⁶ IL-17'nin nükleer factor kappa B'nin reseptör aktivatörünün ligand (RANKL) ekspresyonunu artırdığı ve osteoprotegerin (OPG) ekspresyonunu azaltarak RANKL/OPG oranını değiştirerek kemik yıkımı ve remodelasyonunu kontrol ettiği belirlenmiştir.⁸²

Yu ve ark. IL-17'nin nötrofil mobilizasyonu ile patojene bağlı kemik yıkımını engellediğini rapor etmişlerdir.⁸³ IL-17'nin periodontal hastalıktaki etkisi Th 1 modülasyonunda yer alarak fibroblast kaynaklı mediatörler vasıtasıyla inflamatuvar cevabı artırması şeklinde açıklanmıştır.⁸²

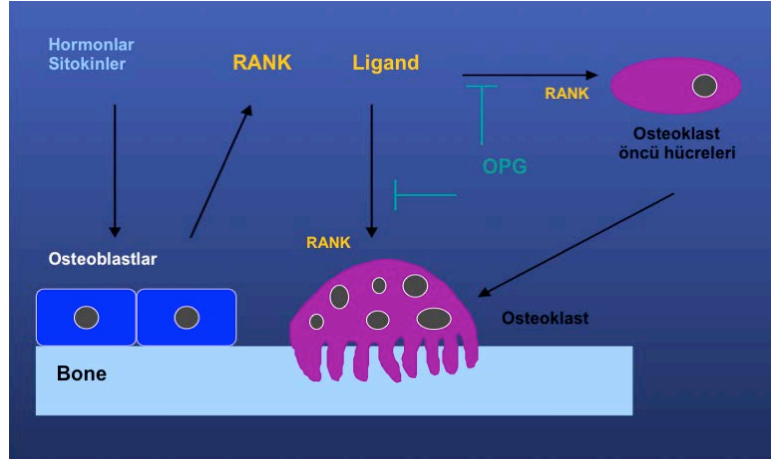
IL-17'nin periodontal hastalıklardaki yeri tam olarak belirlenmese de hastalık patogenezinde önemli rol oynayan sitokinlerle benzerlik gösterdiği ve hastalıklı bölgelerde eksprese edildikleri belirlenmiştir.⁸⁴ Dişeti oluğu sıvısında analiz edildiğinde ise periodontitis varlığında yüksek seviyelerde görüldüğü açıklanmıştır.⁸⁵

2.2.3 OPG/RANKL ve Periodontal Hastalıklardaki Rolü

Periodontitis etiyolojisinde inflamatuvar sürecin yanısıra kemik metabolizmasında meydana gelen değişikliklerin yer alması immünoloji ve kemik biyolojisinin birlikte yer aldığı “osteoinmünoloji” adlı interdisipliner bir alanın oluşmasına neden olmuştur.^{86,87} Günümüzde periodontitis patogenezinin anlaşılması için kemik yıkımında yer alan mediatörler ve sitokinlerin araştırılması devam etmektedir.⁸⁷ İnterlökin-1 α (IL-1 α), interlökin-6 (IL-6), prostoglandin E₂ (PGE₂), tümör nekroz faktör α (TNF- α) periodontitisli hastalarda dişetinde ve dişeti oluğu sıvısında yüksek oranlarda tespit edilmiştir.^{66,88-90}

Günümüzde yapılan son araştırmalara göre kemik yapım-yıkımının kontrolünde TNF ailesine bağlı bir dizi sitokin tanımlanmıştır.⁹¹⁻⁹⁵ Bu moleküller –RANKL, reseptörü RANK ve OPG (osteoprotegerin)- henüz tanımlanmış osteotropik faktörlerin en son etkileyicileri gibi gözükmetedirler.⁹⁵ RANKL, kemik rezorpsiyonunun güçlü bir stimülatörü iken OPG koruyucu olarak görev almaktadır.

Kemik yapım-yıkımının bozulduğu patolojilerde OPG-RANKL dengesizliği görülmüştür.⁹⁵⁻⁹⁷ Son çalışmalarda ise OPG/RANK/RANKL üçlünün immün ve vasküler sistemin kontrolünde önemli olduğu ortaya çıkmıştır.^{97,98} Bu üç molekül kemik, immün hücreler ve damarlar arasında bir etkileşim yaratarak bunlarla ilgili hastalıkların tedavisi ve korunması için yeni stratejilere yön vermektedir.

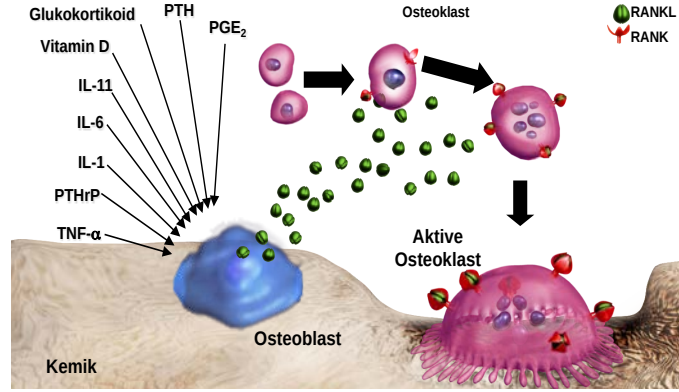


Şekil 2: OPG/ RANK/ RANKL mekanizması

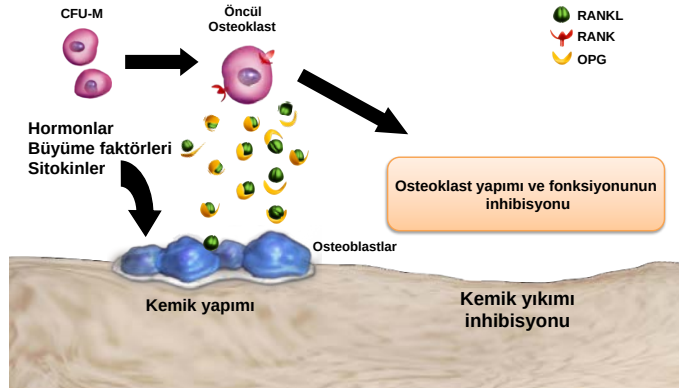
RANK osteoklastik öncü hücreler, B ve T hücreleri, dendritik hücreler ve fibroblastların dahil olduğu monosit/makrofaj sisteminde bulunur.⁹⁹ RANK, RANKL tarafından aktive edilmektedir. RANK, osteoklastların sayıca artması ve kalsiyum için prorezorptif sitokinlerin salınımı ve kalsiyum tropik hormonların uyarımı açısından önem taşımaktadır.

RANKL, TNF ailesine bağlı çözünür bir membran proteini olmakla birlikte osteoblastik hücreler ve T hücrelerince üretilip osteoklast aktivasyonunu ve farklılaşmasını stimüle ederken, osteoklast apoptozisini inhibe eder. RANK sunan osteoklast ve prekürsörleri yüzeyine RANKL bağlanması ile osteoklast farklılaşması ve aktivasyonu sağlanmaktadır.¹⁰⁰ RANKL, RANK ile osteoklast aktivasyonu için son derece önemli olan bir etkileşime girmektedir. RANKL olmadığında kemik rezorpsiyonunun azaldığı görülmüştür.¹⁰¹ TNF reseptörlerinden çözünebilir bir protein olan OPG ise, RANKL ile ters biyolojik etkilere sahip olup RANKL etkileşimini

baskılayan eden bir inhibitör gibi davranarak osteoklastogeneziste azalmaya neden olan protein olarak tanımlanmıştır.^{25,93}



Şekil 3: Osteoklast farklılaşmasında RANKL'in rolü



Şekil 4: OPG, RANK ve RANKL'in kemik yapım ve yıkımındaki rolü

Farelerde yapılan deneylerde OPG yokluğunda kemik yoğunluğu ve hacminde azalma ve kırık ve deformitelerle seyreden osteoporozis olduğu görülmüştür.^{102,103} İntravenöz OPG enjeksiyonu ile

osteoporozisin geriye döndüğü tespit edilmiştir.¹⁰⁴ OPG genetiği değiştirilmiş farelerde ise osteoklastogenezis inhibisyonu ile karakterize osteopetrozisin olduğu görülmüştür.²⁵ Bütün bu veriler OPG'nin varlığının fizyolojik kemik kütlesinin korunması için gerekli olduğunu göstermiştir.

OPG'nin bulunmasının ardından OPG'ye yüksek afinite ile bağlanan TNF sitokin ailesine üye olan bir molekül olan RANKL tanımlanmıştır.^{92,100} RANKL, dendritik hücre stimüle eden bir ajan olarak dendritik hücre ile olgun T hücreleri için yaşam faktörü rolü oynamakta ve proliferasyonlarını düzenlemektedir.^{105,106} Bu aktiviteler RANKL'ın membran reseptörü RANK'ye bağlanarak aktive olmasına bağlı olduğu görülmüştür.¹⁰⁷

RANKL'nin kemik metabolizmasındaki rolünün anlaşılması için OPG ile benzer çalışmalar yapılmıştır. OPG'nin tersine RANKL'da genetiği değiştirilmiş farelerde ileri düzeyde osteoporozis gözlenmiştir,⁹² RANKL olmayan farelerde ise osteoklastların tamamen yok olduğu ve osteopetrosis geliştiği görülmüştür.^{108,109} Ciddi kemik kaybı ve hiperkalsemi rekombinant RANKL ile tedavi edilen farelerde görülen ana fenotipik karakteristik oluşumlardır. Bu verilere göre OPG güçlü bir kemik koruyucu ajan iken RANKL, bir pre rezorptif faktör olup in vitro deneyler in vivo verileri destekler niteliktedir.^{92,93,100,104-113}

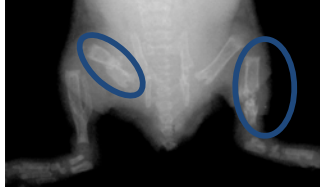


Şekil 5: a. OPG eksikliği olan farelerdeki kemik yapısı, b. Sağlıklı farelerde kemik yapısı, c. Artmış OPG üretimi olan farelerde kemik yapısı

Kemikte RANKL, normalde pre osteosteoblastik hücrelerde, spesifik reseptörü RANK ise osteoklast progenitorlerinde eksprese edilir. Bu sistemde RANKL, osteoklast farklılaşmasında yer alarak osteoklast prekürsörlerinin hayatta kalabilmelerini sağlamaktadır.⁹²⁻⁹⁴ OPG ise osteoblastik hücrelerde yer alan çözünür bir faktör olup, moleküler bağlanma deneylerinde de onaylandığı üzere RANKL'nin tuzak (decoy) reseptörüdür.¹¹⁴ OPG, RANKL ve RANK arasındaki bağlantıyı bloke ederek osteoklastik farklılaşması ve ardından da kemik rezorpsiyonunu inhibe etmektedir.⁹²⁻⁹⁵

Patofizyolojik olaylarda OPG ve RANKL moleküler bir denge unsuru olarak görülmeli ve ayrı ayrı ele alınmalıdır.¹¹⁵ OPG-RANKL ekspresyonu kemik dokusu ile sınırlı değildir, her ikisi de farklı pek çok hücre tarafından üretilmektedirler.⁹⁵ OPG immün hücreler, endotelial hücreler ve osteoblastlar tarafından üretilen çözünür bir faktördür.¹⁰⁸ RANKL ise hücre membranında eksprese edildiği gibi aynı tip hücrelerce çözünür bir faktör olarak üretilir.¹⁰⁸ Günümüzde RANKL'nin üç izoformu tanımlanmıştır: birincisi transmembran formu ikincisi çözünür sitokin ve üçüncüsü ise sitoplazmik moleküldür.^{116,117} Transmembran RANK, OPG ve RANKL gibi her zaman eksprese edilip fizyolojik kemik

yıkımında osteoklastik belirleyici molekül olarak rol oynamaktadır.¹¹⁸ RANK'ın RANKL ile bağlanmak için reseptörleri bulunmaktadır.¹¹⁹ Bu bağlanma olgun osteoklastların oluşumu için gerekli gözükmemektedir.



Şekil 6: OPG eksikliği olan farelerde RANK Ligand aktivitesine bağlı uzun kemiklerde kırılma

Çok sayıda malign ve benign tümör hücrelerinde RANKL ve OPG ekspresyonu gözlenmiştir.^{95,96,120-123} Bu yüzden RANKL/OPG oranı kemik patolojileri için önem kazanmıştır. RANKL/OPG dengesi osteolitik patolojilerde RANKL lehine bozulmuştur.¹²⁴⁻¹²⁶ Bu durumlarda tümörde RANKL konsantrasyonunu dengelemek için yüksek seviyede OPG salgılamaya başlamaktadır. OPG iskeletin kemik rezorpsiyonuna karşı korunma mekanizması olarak görev yapmaktadır. RANKL/OPG oranının osteoporozis, ankilozan spondilit, romatoid artrit, benign kemik tümörleri, proteze bağlı osteolizis ve kemik fraktürleri gibi malign olmayan patolojilerde prognostik biyolojik faktör olarak kullanılması araştırılmaktadır.¹²⁷⁻¹³¹

OPG transgenik farelerin immün fenotipi OPG/RANKL/RANK üçlüsü ve immün sistem arasındaki ilişkiyi ilk defa 1998 yılında Bucay ve ark. göstermişlerdir.¹⁰² OPG genetiği değiştirilmiş farelerde bozulmuş timosit gelişimi gözlenmiştir. RANKL geni bozuk olan farelerde ise lenf nodu organogenezisi eksikliği, normal splenik ve Peyer organizasyonu ve bozulmuş timosit gelişimi rapor edilmiştir.^{108,109} RANK

bulunmayan farelerde ise normal timik gelişim gözlenirken lenf nodu eksikliği ile B ve T hücrelerinde maturasyonu defektler görülmüştür.¹³²

OPG/RANKL/RANK üçlüsü kemik metabolizması ve immün cevap arasında etkileşim oluşturduğu için osteoimmünoloji başlığı altında değerlendirilmeye başlanmıştır.¹³³ Hücre migrasyonu dışında OPG/RANK/RANKL üçlüsünün inflamatuvar proseste yer aldığını gösteren veriler bulunmaktadır. Bu üçlü çok sayıda sitokin inflamasyonda kemiğin verdiği cevapta düzenleyici olarak yer almaktadır.¹³⁴ Bu nedenle romatoid artrit ve periodontal hastalık gibi RANKL'ın fazla salındığı inflamatuvar hastalıklarda RANKL'ın bloke edilmesinin tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir.^{135,136}

Periodontitisin patogenezi hakkındaki araştırmalar genel olarak bakteriyel enfeksiyon üzerine yoğunlaşmışken son 20 yıldır periodontal hastalığı tetikleyen konak cevabının da gündeme gelmesiyle inflamatuvar ve immün cevapların periodontitisin patogenezinde kritik rollerinin olduğu ve konağa bağlı intrensek ve ekstresek faktörler tarafından şekillendirildikleri bildirilmiştir.¹³⁷⁻¹³⁹

Bakteriyel enfeksiyona verilen ilk yanıt doğal bağışıklık sistemini aktive eden lokal inflamatuvar yanıt, sitokin ve mediatörlerin salınımı ve inflamasyonun gingival dokulara doğru ilerlemesi ile gerçekleşmektedir.^{59,140} Bu inflamasyonun gingival dokuda ilerlemesinin durdurulamaması durumunda alveoler kemik de etkilenmektedir.⁵⁹ İnflamasyon ilerledikçe bağ dokusu ve kemikte yıkıma neden olmaktadır.

İnflamatuvar reaksiyona karşı verilen cevapta meydana gelen kemik kaybı, gingival dokulardaki inflamatuvar mediatörlerin kemik rezorpsiyonunu aktive etmek için yeterli düzeyde olmasına ve inflamatuvar mediatörlerin gingival dokuda alveoler kemiğe kritik bir uzaklıkta yerleşmiş olmasına bağlıdır⁵⁹. İnflamatuvar işlev sırasında mediatörler, sitokinler (interlökin -1,-6,-11 ve -17, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) ve kemokinler osteoblast yüzeyinde yer alan RANKL adlı molekülün seviyesini değiştirerek periosteal osteoblastları stimüle etmektedirler.^{23,141} RANKL, osteoblastların dışında fibroblastlar ve T ve B lenfositleri gibi hücre tiplerinde de bulunabilmektedir. Normalde düşük seviyelerde olan RANKL'nin fibroblastlardaki ekspresyonu *A.a* (*Agregatobacter actinomycetamcomitans*) toksini (cytolethal distending toxin) ile artmaktadır.¹⁴¹ Periodontitisli bireylerden izole edilen aktif T ve B hücreleri dişeti dokularındaki en önemli RANKL kaynağı gibi gözükmemektedir.^{135,142,143} Bir çalışmada, CD4+ T hücrelerinin periodontitiste gingival dokularda baskın hücre tipi olduğu ve monositlerle dendritik hücrelere göre daha yüksek seviyede RANKL eksprese ettikleri görülmüştür.¹⁴² Benzer bir çalışmada ise, T ve B hücrelerinin periodontitiste diş eti dokularında baskın mononükleer hücre tipi olduğu ve sağlıklı dokuya göre çok yüksek seviyede RANKL eksprese ettikleri görülmüştür.¹³⁵ Ayrıca B hücrelerinin kemik yıkımını uyarmak için T hücrelerinin varlığına ihtiyacının olmadığı rapor edilmiştir.¹⁴³

Kısaca periodontal kemik rezorpsiyonu ve formasyonu çeşitli hücrelerde bulunan RANKL, osteoklast öncü hücrelerinde bulunan RANKL reseptörü RANK ve çözünür tuzak reseptörü OPG tarafından düzenlenmektedir. RANKL seviyesi yükseldiğinde, osteoklast öncülerindeki RANK ile bağlanarak, dengeyi osteoklast formasyonu ile kemik rezorpsiyonu lehine değiştirmektedir.²³ Makrofaj koloni stimüle edici faktör (CFU-M) varlığında RANKL'ın RANK'a bağlanması ile

preosteoklastlar matür osteoklastlara dönüşecek olan multinükleer hücrelere farklılaşmaktadır.⁸⁷ OPG konsantrasyonları RANKL konsantrasyonuna göre yüksek olduğu zaman OPG RANKL'a bağlanarak RANK ile bağlanmasına engel olmaktadır. RANKL'nin RANK ile bağlanmasının engellenmesi ile osteoklast oluşumu azalırken osteoklast apoptozisine neden olmaktadır.²³

Normal fizyolojik koşullar altında kemik oluşumu ve yıkımı arasında bir denge bulunmaktadır.²³ Belli patolojik durumlarda ise denge değişebilir; osteopetrosiste kemik oluşumu artarken periodontitis ve osteoporoz durumlarında yıkımda artış gösterebilir.^{141,144} Kemik yapımının artışı RANKL/OPG oranının düşmesi olarak da açıklanan OPG seviyesinin yükselmesi veya RANKL seviyesinin azalması sonucu meydana gelmektedir. Tam tersine RANKL/OPG oranının yükselmesi olarak da bilinen OPG seviyesinin düşmesi ve RANKL seviyesinin yükselmesi durumunda patolojik kemik yıkımı oluşmaktadır.

İnflamatuvar cevap esnasında IL-1 β , -6, -11, -17 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler osteoblast ve stromal hücrelerdeki OPG üretimini azaltıp RANKL ekspresyonunu artırarak osteoklastogenezisi indüklemektedir.¹⁴⁵ Tersine IL-3 ve interferon gamma (IFN- γ) gibi antiinflamatuvar mediatörler RANKL ekspresyonu azaltarak veya OPG seviyesini yükselterek osteoklastogenezisi engellemektedir.¹⁴⁵

Günümüze kadar çok sayıda çalışmada periodontitisli bireyden alınan DOS ve dişeti dokularında RANKL/OPG oranı ve konsantrasyonu değerlendirilmiştir.^{135,146-151} Bazı çalışmalarda periodontitisli bireylerde OPG seviyesinde farklılık olmaksızın RANKL

seviyesinin sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğu görülmüştür.^{135,146} Resiprokal olarak OPG'nin düşük seviyede olup RANKL seviyesinin hastalıklı gingival dokularda yükseldiği çalışmalar da bulunmaktadır.¹⁴⁷ Periodontal hastalıkta RANKL/OPG oranındaki artış DOS'de olduğu kadar dokularda da görülmüştür. RANKL/OPG oranı çalışmadan çalışmaya değişkenlik gösterse de genel olarak periodontitisli gruplarda sağlıklı kontrollere göre bu oranın yüksek seviyede olduğu görülmüştür.^{135,146-150}

Tüm bulgulara göre RANKL/OPG oranının yükselmesi periodontal hastalığın şiddeti ile ilişkili olabileceği göstermektedir. RANKL/OPG oranının DOS'ta gingivitisli ve sağlıklı bireylere göre agresif periodontitisli ve immünsüpresif tedavi gören veya görmeyen kronik periodontitisli bireylerde daha yüksek seviyede olduğu bulunmuştur.¹⁴⁹ Periodontal hastalıkta bu oranının yükseldiği aynı hasta grubunda doku örneklerinde de doğrulanmıştır.¹⁵¹ Benzer bir çalışmada doku örneklerinde yapılan incelemede sağlıklı bireylere göre orta derecede ve ilerlemiş periodontitiste RANKL/OPG oranı yüksek olarak kaydedilmiştir.¹⁵² Periodontal hastalıkta bu oran yüksek çıkmasına rağmen çeşitli periodontitis tiplerinde değişiklik göstermeyebileceği bildirilmiştir.¹⁴⁸

Kemik kaybı ve belki de hastalığın şiddeti ile dişeti dokusunda ve DOS'ta artan RANKL/OPG oranı ile RANK-RANKL-OPG üçlüsünün temel tedavi yaklaşımındaki yeri tartışmalıdır. İstenilen sonuç kemik yapımın yıkıma eşit olduğu OPG seviyesinin yükselirken RANKL seviyesinin azaldığı, RANKL/OPG oranının dengede olduğu durumdur. Osteoprotegerin füzyon proteininin ve RANK'a bağlı osteoklastogenezis inhibitörlerinin periodontal hastalıkla ilgili kemik kaybına ve RANK-RANKL-OPG üçlüsüne etkilerinin araştırıldığı çalışmalar günümüzde sürdürülmektedir.^{151,153-155}

2.3. Periodontal Kemik Lezyonlarının Etiyolojisi, Tanı ve Tedavisi

Periodontal hastalık sonucu, alveoler kemiğin yüksekliğinin azalmasının yanı sıra kemiğin morfolojik özellikleri de değişir. Bu değişikliklerin doğası ve patogenezinin anlaşılması etkin tanı ve tedavi için büyük önem taşır. Alveoler kemik kaybının en önemli nedeni enflamasyonun dişeti kenarından dişin destek dokularına doğru ilerlemesidir. Periodontal hastalık sonucu oluşan kemik lezyonlarında önemli morfolojik varyasyonlar söz konusudur. Kemik lezyonlarının morfolojik özelliklerini etkileyen faktörlerin başlıcaları şunlardır.¹⁵⁶

- a. Hastalık etkeni mikroorganizmaların kök yüzeyine yerleşimi,
- b. Dişlerin dizilimi, fasiyal ve lingual kemik kalınlıkları,
- c. İnterdental septumun kalınlığı, genişliği ve kret açısı,
- d. Kökün alveol kemiği içindeki pozisyonu ve kök anatomisi,
- e. Köklerin komşu diş yüzeyi ve komşu periodontal lezyonlarla ilişkisi

2.3.1. Kemik defektlerinin sınıflandırılması ve teşhisi

Kemik defektleri morfolojik ölçütler kriter alınarak tanı, tedavi ve prognozda klinisyenlere yardımcı olmak amacıyla sınıflandırılmıştır. Sınıflandırmada en önemli kriter furkasyon, kemik içi ve kemik üstü defektleri birbirinden ayırmaktır.¹⁵⁷

Periodontal hastalık sonucu meydana gelen alveol kemik kayıpları, klinik kriterlere göre yatay (horizontal) ve açısal (dikey, vertikal) olmak üzere iki grupta tanımlanmıştır.

Horizontal kemik kaybı; Dişi saran alveol kemiğinin yüksekliği azalmıştır, kret tepesi dişin uzun eksenine diktir ve cep tabanı alveol kretinin tepesinde konumlanmıştır. Periodontal hastalıklarda en sık yatay kemik erimesi görülür. Bir diş etrafındaki fasial, lingual kortikal kemikler ve interdental septa aynı derecede etkilenmemiş olabilir.¹⁵⁶⁻¹⁵⁹

Vertikal (açısal) kemik kaybı; Bu tip defeklerde alveol kreti ile dişin uzun eksenini arasında dar bir açı oluşmaktadır.¹⁵⁷ Kemik içi ceplerin eşlik ettiği açısal kemik defektlerinde defekt tabanı dişi saran alveol kemik kretinin apikalinde yer almaktadır. İki farklı defekt türü vardır: Bunlar kemik içi defekt ve interdental kraterdir.

Periodontal hastalık sonucu alveol kemiğinde çeşitli tip ve genişlikte ortaya çıkan kemik içi defektler Goldman ve Cohen tarafından 3 ana başlıkta sınıflandırılmıştır:³

1. Kemiküstü defektler
2. Kemikaltı defektler
 - a. Kemikiçi defektler
 - b. Kraterler
3. İnterradiküler defektler (Furkasyon defektleri)

Cep tabanının alveoler kemik seviyesinin üzerinde konumlandığı defektler kemik üstü defektlerdir. Cep tabanının kemik seviyesinin altında yer aldığı defektler ise kemik altı defektler olarak isimlendirilip, kemik içi defektler ve kraterler şeklinde iki bölümde incelenmişlerdir.

Kemik içi defekt “bir, iki veya üç kemik duvarı veya bu duvarların kombinasyonu ile çevrelenen kemik içindeki periodontal defekt” olarak tanımlanmaktadır. Kemik içi defektler morfolojilerine göre su alt gruplara ayrılmaktadırlar:^{3,156}

- Kalan kemik duvarı sayısına göre: 1,2,3 duvarlı ve kombine defektler,

- Tek-duvarlı kemik içi defektler: bir kemik duvarı ve dış yüzeyinden meydana gelen defektler
- İki-duvarlı kemik içi defektler: iki kemik duvarı ve dış yüzeyinden meydana gelen defektler
- Üç-duvarlı defektler: üç kemik duvarı ve dış yüzeyinden oluşan defektlerdir.

- Defektin genişliğine göre: Sığ ve dar, sığ ve geniş, derin ve dar, derin ve geniş defektler,

- Dış etrafındaki topografik yayılımlarına göre: Hemiseptum ve interdental kraterler.

Krater defektler ise komşu iki dişin köklerinde hemen hemen eşit düzeyde kemik kaybı olan, interdental alveolar kemiğin çanak şeklinde olduğu defektleri ifade etmektedir.¹⁵⁶

Vertikal kemik defektlerinin oluşum nedenleri yıllardır tartışılmaktadır. Carranza bu defektlerin inflamasyon ve travmaya karşı direncin azalması sonucu oluştuğunu ileri sürerken¹, okluzal travma veya alveol kemik anatomisi ile ilişkilendirenler de bulunmaktadır.¹⁶⁰ Goldman ve Cohen, bu defektlerin meydana gelmesinde diş anatomisi ve pozisyonunun, açık kontak alanlarının, düzensiz diş yapılarının ve gelişimsel kök oluklarının etkili olabileceğini savunmuşlardır.³ Subgingival plağın kök yüzeyinde apikale doğru düzensiz yayılımı da defekt oluşumunda önemli olabileceği bildirilmiştir.^{161,162}

Periodontal hastalık sonucu hangi tip yıkımın meydana geleceğinin tespiti mümkün olmamakla birlikte dişler arasındaki interdental septumun genişliği ve kalınlığı, vestibül ve lingual bölgelerdeki alveol kemik kalınlığı, komşu dişlerin kökleri arasındaki yakınlık ve diş çevresinde fenestasyon tipi defektlerin varlığı hastalığın ilerlemesinde ve defektin morfolojisinin belirlenmesinde etkili olmaktadır.¹ Papapanou ve Tonetti'nin 2000 yılında radyografik değerlendirme dahil edilmeksizin flep kaldırıldığında gözlenen morfolojileri göz önünde bulundurarak yaptıkları sınıflandırmada da benzer görüşü savunmuşlardır.¹⁵⁶

Klinik olarak periodontal defektlerin morfolojisinin teşhisi klinik ataşman seviyesinin ölçülmesi ve radyografilerin değerlendirilmesi ile mümkün olmaktadır.¹⁵⁶ Ancak superpozisyon ve iki boyutlu görüntülerin yetersiz bilgi verme olasılığı göz önünde bulundurulduğunda bu verilerin

gerektiği için klinik veriler ile desteklenmesinin konuya daha objektif bakış açısı kazandıracağı bildirilmektedir.^{156,163-165} Radyografik olarak başlangıç seviyesindeki doku kayıpları saptanamadığından, saptanabilir hale gelmesi için belirli bir miktar doku kaybının oluşması gerektiği bildirilmiştir. Ayrıca radyografilerde kemik ve sert diş yapılarının üst üste çakışmasından dolayı ilerlemiş lezyonlar tespit edilemeyebilmektedir. Klinik ataşman seviyesi ile birlikte radyografik kemik kaybına ilişkin defektin durumu öngörülmekte iken, defektin esas morfolojisi flep kaldırıldığı zaman saptanabilmektedir.¹⁵⁶

Periodontitis hastalarının klinik ve radyografik bulgularının incelendiği çalışmalarda yüksek prevalansta kemik defektlerinin gözlendiği, defekt görölme sıklığının yaşla birlikte arttığı, erkeklerde daha sık oluştuğu, mezial yüzeylerde distal yüzeye göre daha yüksek oranda gözlendiği ortaya çıkmıştır.^{159,166-170}

2.3.2. Periodontal Tedavi

Periodontal tedavide amaç enflamasyonun ortadan kaldırılması, hastalığın ilerleyişinin durdurulması, estetiğin ve konforun yeniden sağlanması ile kaybolan periodontal destek dokuların tekrar oluşturulmasıdır.⁸ Bu amaca yönelik periodontal defekt varlığına, yayılımına ve morfolojisine bakılmaksızın ilk olarak plak kontrolü sağlandıktan sonra diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirmesi yapılması gerekmektedir.¹⁷¹

Cerrahi olmayan periodontal tedavi olarak ifade edilen diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesi işlemleri sonucu periodontal ceplerde dişeti ödeminin çözülmesi ve yumuşak dokuların sıkılaşması ile rölatif bir ataşman kazancı elde edilmektedir.^{171,172}

Yapılan araştırmalara göre cep derinliği arttıkça, anatomik oluk ve konkavitelerin varlığında ve periodontal hastalığın ciddiyetinin artmış olduğu durumlarda cerrahi olmayan tedavi yeterli olmamakta ve başlangıç tedavisinin etkisinin yetersiz kalması sonucu periodontal cerrahi işlemlere ihtiyaç duyulmaktadır.^{7,156,173}

Periodontal cerrahi işlemler amaçlarına göre rezektif ve rejeneratif işlemler olarak ikiye ayrılmaktadır. Gingivektomi, gingivoplasti, ostektomi, osteoplasti, apikale pozisyone flep ve kök rezeksiyonu gibi dişeti konturunun apikale konumlandırılarak kök yüzeyine ulaşımın sağlanarak cep derinliğinin elimine edildiği prosedürler rezektif işlemlerdir.^{8,9}

Gingival küretaj, modifiye Widman, açık flep küretajı ve yeni ataşman işlemi (ENAP) gibi işlemleri kapsayan flep cerrahisi reataşman veya yeni ataşman sağlamaya yönelik olarak geliştirilmiştir. Kemik içi defektlerde apikale pozisyone veya modifiye Widman flep ile birlikte osteoplasti ve ostektomi gibi rezektif işlemler de uygulanabilmektedir.^{10,174-176} Bu yöntemler derin kemik içi defektlerde estetik problemlere ve doku kaybına neden olduğu için bunların eliminasyonu amacıyla periodontal rejeneratif tedaviler gündeme gelmiştir.^{10,176-178}

Günümüzde periodontal hastalık tedavisi kök yüzeyinde yeni sement ve yumuşak doku ataşmanı oluşması ve kaybedilen kemiğin yeniden kazanılması felsefesi üzerinde şekillendirilmiştir. Bunun gerçekleşmesi için hasar görmüş bağ dokusunun rejenere olması, hasarlı kök yüzeyinde yeni sement ve fibrillerin tutunarak yeni bağ dokusu ataşmanını oluşturulması ve yeni kemiğin restore edilmesi gerekmektedir.²⁹

Egelberg'e göre dişin destek dokularının kaybına ve dişin kaybedilmesine neden olan kronik periodontitisin tedavisinde ataşman kaybının ilerlemesini engellemenin yanısıra kayıp destek dokuların rejenerasyonu ile yeni kemik ve periodontal ligament oluşumu sağlanmalıdır.¹⁷⁹ Rejenerasyon ise kaybedilmiş veya yaralanmış alanların yeniden fonksiyon ve yapı olarak yeniden oluşturulması veya yeniden inşa edilmesi olarak tanımlanmaktadır. Bu da periodontal destek dokuların yani periodonsiyumun alveolar kemik ile birlikte yeniden oluşurken, yeni sementin kollajen fibriller ile kök yüzeyinde oluşturduğu yeni ataşmanın meydana gelmesini ifade etmektedir.²⁹

Kayıp periodontal desteğin yeniden oluşturulduğu prosedürler "reataşman" veya "yeni ataşman prosedürleri" olarak da adlandırılmaktadır.¹⁸⁰ Bu terim fibröz ataşmanın mekanik veya cerrahi olarak periodontal ligament içeriğini kaybeden kök yüzeyinde yeniden oluşması olarak açıklanırken, "yeni ataşman terimi peridontitisin ilerlemesine bağlı olarak kök yüzeyindeki bağ dokusu kaybının fibröz ataşman olarak yerine konması olarak açıklanmıştır. Ancak çalışma sonuçlarına göre periodontal veya mekanik ne şekilde kaybedilirse kaybedilsin bağ dokusu oluşma olasılığı hakkında herhangi bir fark görülmemiştir.^{180,181} Bu yüzden "yeni ataşman" terimi periodontal ligament

dokusunu mekanik veya periodontal hastalık nedeniyle kaybetmiş olan kök yüzeyinde kollajen fibrilleri ile yeni sement oluşumunu ifade ederken, “reataşman” terimi çevredeki yumuşak doku ile korunmuş olan periodontal ligament dokusunun yeniden bir araya gelmesi olarak ifade edilmiştir.¹⁸⁰ Patolojik hadiseler sonucu açığa çıkmış olan kök yüzeylerinde yeni sement ve bağ dokusu ataşmanının oluşumu ise “yeni ataşman” olarak adlandırılmıştır.¹⁸² Operasyon sonrası dişeti kemiğin koronalindeki kök yüzeyine bağlantı epiteli aracılığı ile tutunursa “uzun bağlantı epiteli” şeklinde adlandırılmaktadır.¹⁸² Bu tür bir iyileşmede dokuların özgün formu elde edilemediği için rejenerasyon olarak kabul edilmemekte, “tamir” şeklinde tanımlanmaktadır.

Periodonsiyumun rejenerasyonu periodontitisten etkilenmiş kök yüzeyinde kollajen fibrillerle birlikte sement oluşumu ve alveolar kemiğin tamirini kapsamaktadır. Alveolar kemiğin tamiri periodontal rejeneratif tedavinin başarı kriterlerinden biri olsa da tartışmaya açık bir durumdur. Bu tartışmanın nedeni de periodontitisten etkilenmeyen dentisyonda da fenestrasyon ve dehiscens gibi defektlerin var olup, kemik olmadığı için fibröz ataşmanın olduğu durumlar bulunmasıdır. 1976’da Melcher periodontal cerrahi sonrası kök yüzeyinde ilk çoğalmaya başlayan hücrenin ataşmanın tipini belirleyeceğini belirtmiştir.¹⁸³ Flep operasyonu sonrası kürete edilen kök yüzeyinde dört değişik hücre tipi popule olmaktadır:

1. Epitel hücreleri
2. Gingival bağ dokusu hücreleri
3. Kemik hücreleri
4. Periodontal ligament hücreleri

Eski dönemlerde dişin destek dokularının restore edilmesinde alveolar kemiğin rejenere olması en çok özen gösterilen veya önem verilen konuydu. Kök yüzeyinde oluşan yeni bağ dokusu ve büyüyen kemik dokusu arasındaki ilişkiyi test etmek için hayvanlarda yapılan bir çalışmalarda rejenere olan kemik dokusunun miktarı ile bağ dokusu ataşmanının arasında bir bağlantı olmadığı görülmüştür.¹⁸⁴⁻¹⁸⁶

Periodontal tedavi sonrası iyileşmede yara bölgesinde çoğalmaya başlayan hücre tipi (epitel, bağ dokusu, alveol kemik ve periodontal ligament), yeni oluşacak dokunun tipini ve kalitesini belirlemektedir.^{4,8,187-190}

Geleneksel periodontal tedavi ile cep derinliğinde azalma ve yumuşak doku inflamasyonunun ortadan kaldırılması gibi sonuçlar elde edilmesine rağmen hastalık sonucu oluşmuş kemik defektlerine herhangi bir müdahalede bulunulmamaktadır. Rezektif ve rejeneratif prosedürler, ileri derecede yıkım ve doku kaybının gözlemlendiği bu vakalarda tercih edilebilir bir tedavi yöntemi olarak gündeme gelmektedir.

Kemik defektlerinin tedavisinde ilk dönemlerde hasarlı dokunun (kemik duvarları) ilgili bölgeden uzaklaştırılması esas hedefi oluştursa da ilerleyen yıllarda sadece kemiğin şekillendirilmesi işlemi periodontal tedavideki yerini almıştır.¹⁰ Patolojik cep ile kemik duvarlarının elimine edilmesi için yapılan osteoplasti ve ostektomi işlemleri periodontal rezektif işlemler olarak ifade edilmektedir. Günümüzde rezektif cerrahi hala kullanılmakla birlikte kemik grefti, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu gibi yeni yöntemlerin kullanılmaya başlaması ile popülerliğini yitirmiştir.¹⁰

Periodontal rejenerasyon kapsamında koronale pozisyone fleple birlikte kök yüzeyi biyomodifikasyonu, kemik greftleri ve implantları kullanımı, organik veya sentetik membran kullanımı (yönlendirilmiş doku rejenerasyonu) gibi pek çok prosedür yer almaktadır.

2.3.3. Kemik greftleri

Bağ dokusundan farklı olarak kemik dokusu skar oluşturmaksızın rezorpsiyon ve yeniden şekillenme süreçlerinin devamlılığı sayesinde rejenere olmaktadır. İnflamatuvar cevap ile başlayan kemik tamiri granülasyon oluşumu sonrası yara bölgesinde damarlanmanın artması, fibroblastlar ve osteoprogenitör hücrelerin göç etmesi ile devam eder. Kemiğin organik matriksini oluşturmak üzere osteoprogenitör hücrelerden farklılaşan osteoblastlar, organize olmayan “kallus” adı verilen mineralizasyon kitlesini meydana getirmektedir. Düzensiz mineralizasyon tabakaları zamanla lamelli düzgün kemik yapısına dönüşmekte ve yeni kemik dokusunun gelişimi tamamlanmaktadır.¹²

Kelime anlamı olarak transplantasyon ya da implantasyon için kullanılan greft, Periodontal Terimler Sözlüğü’nde (AAP tarafından yayınlanan) kemik defektlerinin tedavisinde kullanılan canlı veya cansız maddeler olarak açıklanmıştır.¹⁹¹ Periodontal hastalık sonucu hasar görmüş dokunun sağlık ve fonksiyonuna yeniden kavuşturulması amacıyla periodontal defekte yerleştirilerek kullanılmakta olan kemik greftlerinin uygulamasında fonksiyonel ataşmanın rejenerasyonu ve cep derinliğinin azalması da beklenen bir etkidir.^{12,192} Bu amaçlar için kullanılması planlanan greft materyali;

- Toksik etkileri olmamalı,
- Enfeksiyona direnç göstermeli,
- Esnek ve güçlü olmalı,
- Antijenik özellik taşımamalı,
- Kolay uygulanabilir olmalı,
- Kolay elde edilmeli ve ucuz olmalı,
- Kök rezorpsiyonu ve ankiloza sebep olmamalı,
- Yeni ataşman oluşumunu stimüle etmelidir.

Greftler için yapılarına, alındıkları kaynaklara veya uygulama şekillerine göre sınıflandırma yapılmıştır. ^{3,193,194}

1. Otojen greftler (otogreftler): Aynı bireyin bir bölgesinden alınıp bir başka bölgeye nakledilen greftlerdir.

- Aspire edilmiş kemik iliği ya da işlenmiş kemik oluşturabilecek hücreler,
- Kansellöz kemik
- Non-vaskülerize kortikal kemik
- Vaskülerize kemik

2. Homogreftler: Aynı türde farklı bireylerden elde edilerek nakledilen greftlerdir.

- İzogreft: Genetik benzerlik taşıyan bireylerden elde edilen greftlerdir.
- Allogreftler (Allojen greftler): Genetik yapıları farklı olup aynı türe ait bireylerden elde edilen greftlerdir.
 - Taze dondurulmuş kemik
 - Dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DKKA)
 - Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DDKKA)

3. Heterogreftler veya Ksenogreftler: Farklı türler arasında kullanılan greftlerdir.

- Sığır kaynaklı greftler

- Mercan kaynaklı greftler

4. Alloplastik greftler: Sentetik materyallerden üretilen greftlerdir.

- Polimerler
- Biyoseramikler → Trikalsiyum fosfat
→ Hidroksiapatit (HA)
 - ⇒ Yoğun, pöröz ve rezorbe olmayan
 - ⇒ Rezorbe olmayan, pöröz (ksenogreft)
 - ⇒ Düşük ısıda elde edilmiş rezorbe olan
- Biyoaktif camlar

Kemik grefti uygulamalarında 4 temel mekanizma ile meydana gelen yeni kemik oluşmaktadır:

1. Osteogenezis: Osteoblastların greft içerisinde transplante edilen materyalin canlılığını koruması neticesinde yeni ossifikasyon odakları oluşturmaktadır.

2. Osteokondüksiyon: Transplante edilen greft materyallerinin oluşturduğu iskeletsel yapının rezorbe olup çevre dokulardan damar ve kemik hücrelerinin bölgeye göç etmeleri ile depozisyone olan yeni kemik lamellerini ifade etmektedir.

3. Osteoindüksiyon: Mezenşimal hücrelerin kondroblast ve osteoblastlara dönüşmesini uyaran bir mekanizmadır. Kemik morfojenik proteinlerince (Bone Morphogenic Protein-BMP) kontrol edildiği kabul edilen yeni kemik oluşum süreci osteogenezisi stimüle etmektedir.

4. Osteointegrasyon: Kemik yüzeyine greft materyalinin fibröz bir doku ataşmanı olmaksızın bağlanması durumudur.

Kemik greftlerinin periodontal tedavide kullanımı kemiğin büyümesinin uyarılmasının kemik dokusundaki hücreleri periodontitisten etkilenmiş kök yüzeyinde kollajen fibril içeren yeni sement oluşturması için indükleyebileceği bildirilmektedir.

Otojen greftler canlı hücreler barındırabildiği için kemik iyileşmesini osteogenezis veya osteoindüksiyon yaparak etkilediği düşünülmektedir. Bunlar genelde rezorbe olup yerini yeni kemiğe bırakmaktadır. Doku uyumluluğu ve hastalık bulaşma gibi olası riskler otojen kemik kullanımı ile ortadan kalkmaktadır. Canlı osteoblastlar ve osteoprogenitör hücreler barındırdıkları için iyileşmenin osteogenezisle meydana geldiği düşünülmektedir. Bu sebeple “altın standart” olarak kabul edilmektedirler. Otojen greftler intraoral veya ekstraoral bölgelerden elde edilmektedir. Ancak ikinci bir cerrahi aşamasının varlığı kullanımını sınırlandırmaktadır. Intraoral otojen kemik grefti uygulamasının flep operasyonu ile karşılaştırıldığı çalışmalarda kemik dolum miktarının ve klinik ölçümlerin daha başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür.¹⁹⁵⁻¹⁹⁷ Ancak ikinci bir cerrahinin gerekliliği ve uygun bölge bulmaktaki zorluklar nedeniyle kullanımı sınırlandırılmıştır.¹⁹⁸ Ekstraoral otojen kemik greftlerinin ise yüksek osteojenik potansiyeline rağmen kök rezorpsiyonuna yol açtığı ve sekonder bir operasyonun gerekliliği nedeniyle kullanımı önerilmemektedir.¹⁹⁹ Ekstra ve intraoral otojen kemik greftlerinin kullanımında rejenerasyon^{9,200,201} veya uzun birleşim epiteli ile iyileşme olduğu gözlenmiştir.²⁰²

Allojenik greftler, kemik içi defektlerde kemik oluşumu stimüle ederken otojen kemik elde etmek için ikinci bir cerrahi operasyon yapılmasını engellemek için kullanılmaya başlanmıştır. Ancak bu greftlerin kullanımında yabancı cisim reaksiyonu olduğu için dondurularak, radyasyon veya kimyasallarla hazırlanmaktadır.^{5,12}

Allojenik greftler dondurulmuş iliak süngerimsi kemik, mineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik greftleri ve dekalsifiye dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti olarak kullanılmaktadır. Graft rejeksiyonu ve hastalık bulaşma riski periodontolojide dondurulmuş allojenik greftlerin kullanımını ortadan kaldırmıştır. Dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftleri üretim sürecinde hücreler canlılığını yitirdiği için osteokondüksiyon yolu ile kemik rejenerasyonuna katkıda bulunmaktadır.^{5,12}

Ksenojenik kemik greftlerinin insanlarda kullanılması ile ilgili çalışmalar uzun yıllardır devam etmektedir.²⁰³ Sığır kemiği bu amaçla en çok kullanılan greft materyalidir.²⁰⁴ Ksenogreftlerin rejeneratif periodontal cerrahide kullanımları yıllar önce gündeme gelmiştir. Nielsen ve ark. otojen ve ksenojenik greft kullanımının sonuçlarını radyografik ve periodontal sondlama ile değerlendirdiklerinde kemik dolumu ve klinik ataşman seviyesi kazancı açısından arada herhangi bir fark olmadığını gözlemlemişlerdir.²⁰⁵ Bir hayvan çalışmasında her iki greft tipinin histolojik olarak incelemesinde iyileşen defektlerin bağ dokusu ataşmanında genellikle gözlemlendiği gibi sementle çevrili izole greft partikülleri görülmüştür.²⁰⁶ 1960'lı yıllarda heterogreftlerin kullanılması popüler olmasına rağmen sığır kemiğinden elde edilen greftlerin transplantasyonundan sonra otoimmün hastalık gelişen vakaların rapor edilmesiyle kullanımı azalmıştır.²⁰⁷

Deproteinizasyon işlemlerinin daha etkili yapıldığı metotların geliştirilmesi sonucunda sığır kemiği kullanımı 1990'lı yıllarda tekrar gündeme gelmiştir. Kemiğin organik bileşenleri tamamen uzaklaştırılarak materyalin antijenik özellikleri azaltılmış ve doku tarafından kabul edilebilir hale getirilmiştir.²⁰⁸

Bu greft materyallerinden biri olan Bio-Oss'un tüm protein yapılarının uzaklaştırılmış olması nedeniyle osteokondüktif bir materyal olduğu belirtilmektedir.^{209,210}

Bio-Oss'un morfolojik olarak incelendiği çalışmalarda doğal bir yapısı olduğu kemiğe göre daha pöröz olduğu, daha geniş bir iç yüzeye ve kalsiyum/ fosfor oranına sahip olduğu saptanmıştır.^{15,203,207,211,212}

Sığır kemiginden elde edilen heterojenik greft materyali olan Bio-Oss ısıtma işlemi ile deproteinize edilmekte ve böylece tüm organik ve olası antijenik yapılar ortadan kaldırılmaktadır.^{15,207} Daha sonra alkaline ile bir işleme tabi tutulmakta ve tekrar sterilize edilmektedir. Bu işlemler ile anjiogenezis ve osteoblastların migrasyonunu kolaylaştıran ve iskelet görevi gören ağ yapısı ve porlar meydana gelmektedir.^{15,207,210,213,214}

Yeni kemik oluşumu için yardımcı iskelet görevi gören Bio-Oss'un yapısı sayesinde osteoblastlar bir ağ oluşturarak osteoide dönüşür ve sonunda sekonder kemik Bio-Oss trabekülünü çevreleyerek iskelet yapının kalınlaşmasını sağlamaktadır.²¹⁴

Geliştirilmiş özellikleri sayesinde Bio-Oss son yıllarda Periodontoloji ve Maksillofasiyal cerrahi dallarında daha fazla kullanılır ve tercih edilir hale gelmiştir. Maksillofasiyal cerrahide ve periodontolojide sinüs liftingte, alveoler kret yükseltme işlemlerinde, dişler ve implantların çevresindeki defeklerin tedavisinde, periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde, yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda, mandibula ve maksilla rekonstrüksiyonunda, çekim soketlerinin doldurulmasında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.^{15,215} İnsan ve hayvan histolojik çalışmalarında sığır kaynaklı kemik greftlerinin periodontal kemik içi defektlerde olumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir.^{216,217}

Alloplastik kemik greftleri de otojen ve allojen kemik greftlerinin dezavantajlarının gündeme gelmesi ile kullanılmaya başlanmıştır. Osteokondüktif özellik gösteren ve hastalık bulaştırma riskleri bulunmayan bu greftlerin, iskelet oluşturarak kemik yapımına ortam hazırladıkları gösterilmiştir.¹⁹³ Klinik olarak cep derinliklerinde ve ataşman seviyelerinde önemli kazançlar sağlamalarına rağmen histolojik olarak rejenerasyonda yetersiz kaldığı belirtilmiştir.¹⁹³

Klinik çalışmalarda bioaktif camlar ve beta trikalsiyum fosfat (β -TCP) gibi alloplastik greft materyalleri kullanılmışlardır. Bu materyallerin insan dokularında iyi tolere edilebildikleri, kemik içi defektlerin tedavisinde klinik ve radyografik olarak önemli gelişmeler sağladıkları bildirilmiştir.²¹⁸⁻

221

Yukarı ve ark. kemik içi defektlerde kemik grefti kullanımında başarılı klinik sonuçlar için,

- Etiyolojik faktörlerin elimine edilmesi,
- Dişlerin gerekli durumlarda stabilize edilmesi,
- Flep dizaynının primer kapanmayı sağlayacak şekilde yapılması,
- Operasyon sırasında bütün granülasyon dokularının temizlenmesi,
- Kök yüzeyinin özenle düzeltilip hazırlanması,
- Kanayan sağlıklı kemik yüzeyinin elde edilmesi,
- Greftlerin uygun bir şekilde yerleştirilmesi, yer değiştirmesinin engellenmesi,
- Primer kapanış sağlandıktan sonra pat ve antibiyotik uygulaması ile post-operatif bakımın optimal şekilde sağlanması gerektiğini bildirmişlerdir.²²²

2.3.4. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR)

Rejenerasyon, yaralanmış veya kaybedilmiş dokunun yeniden yapılanması veya yaralı bölgenin yeniden yapılanması olarak tanımlanmıştır.^{180,183} Periodontal rejenerasyon tanımı ise alveolar kemik, periodontal ligament ve sementin meydana getirdiği destek dokuların rejenerasyonunu kapsamaktadır.

Periodontal cerrahi sonrasında kök yüzeyinde çoğalan hücrelerin oluşacak ataşmanın doğasını belirlediği 1976 yılında Melcher tarafından bildirilmiştir.¹⁸³ Osteojenik özellikte olmayan diş eti bağ dokusunun yara bölgesinde proliferasyon olması sonucu kemik veya periodontal ligament oluşmayacaktır. Yara bölgesine dişeti hücrelerini uzak tutacak kemik ya da ilik içeren greftler yerleştirildiğinde osteojenik özellikteki hücreler çoğalabilmektedir.¹⁸³

Konvansiyonel cerrahi operasyonlar sonucu epitel hücrelerinin apikale hızla göç edip periodontal ligament hücrelerinin kök yüzeyinde çoğalmasını engellemesi ile iyileşme uzun birleşim epiteli şeklinde olmaktadır.²²³⁻²²⁶ Epitelyal bariyer ile çevre dokulardan kaynaklanan granülasyona karşı korunma sağlanmaktadır.²⁰¹

Periodontal ligament hücrelerinin yara bölgesine en yavaş göç eden hücreler olduğunun anlaşılması üzerine epitel ve bağ dokusu hücrelerinin göçünü engellemek için bariyer kullanımının etkili olabileceği gündeme gelmiştir.²²⁷⁻²²⁹ Rejenere olması beklenen bölgeye bir bariyer (membran) yerleştirilerek bağ dokusu ve epitel hücrelerinin ilgili bölgeden uzak tutulması esasına dayalı bu yöntem yönlendirilmiş doku rejenerasyonunun temelini oluşturmaktadır.^{8,182,230} Kemik defekti ve kök üzerinde bir boşluk yaratacak şekilde yerleştirilen membranın altındaki boşlukta periodontal ligament ve kemik hücreleri rejenere olmaktadır.⁸

Periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde YDR'nin kullanımı ile periodontal hastalıktan etkilenmiş dişlerin desteğinin artırılarak fonksiyon ve estetiğin yeniden kazandırılması ve prognozun geliştirilmesi amaçlanmaktadır. Yapılan çalışmaların sonuçları da YDR'nin kemik içi defektlerde etkili olduğu pek çok araştırmada kanıtlanmıştır.^{9,177,186,230-232}

Klinikte yaygın olarak kullanım alanı bulan YDR'nin her zaman aynı şekilde etkili ve başarılı bir iyileşme ile sonuçlanmadığının tespit edilmesinin ardından farklı tekniklerle birlikte kullanımı gündeme gelmiştir.^{233,234} Doku mühendisliği ile ilgili dokuyu uyarmak üzere sinyaller

oluşturan moleküller olarak elde edilen biyomateryaller, istenen doku tipini oluşturmak için implante edilmek üzere üretilmektedirler.^{235,236}

Büyüme faktörleri, trombositten zengin plazma (TZP), mine matris türevleri ve kemik morfogenetik proteinlerinin periodontal doku rejenerasyonu amacıyla kullanımı biyolojik mediyatörlerin yara bölgesinde hücrel popülasyonu artırması ile gündeme gelmiştir.²³⁵⁻²³⁷

Yara iyileşmesi sırasında proliferasyon, kemotaksis ve farklılaşma aşamalarını düzenleyen büyüme faktörlerinin kök yüzeyine lokal olarak uygulanarak yara iyileşmesinin hızlandırılıp yeni sement ve bağ dokusu oluşumunun tetiklenmesi yaklaşımı periodontal rejenerasyon için kullanılmaya başlanmıştır.^{237,238}

2.3.5. Trombositten Zengin Plazma (TZP)

Trombositten zengin plazma (TZP) , bir dizi santrifügasyon işlemiyle hastanın kendi kanından otojen olarak elde edilen yüksek trombosit konsantrasyonuna sahip plazmadır. Pıhtı formasyonu, yara iyileşmesi ve büyüme faktörlerini salgılanmasından sorumlu trombositlerin yara bölgesinde miktarının artırılması esasına dayanan bir mekanizması bulunmaktadır.²³⁹ Otolog trombosit içeren bu plazmada sağlıklı bireylerdeki trombosit sayısının ($200.000 \pm 75.000/\mu\text{l}$) en az dört katı kadar ($1.000.000/\mu\text{l}$) trombosit bulunmaktadır.

Son 30 yıldır trombositten zengin plazma ya da kısaca TZP, doku mühendisliği, yara iyileşmesi, kemik greftleri, travma cerrahisi ve anjiyogenezis gibi konularda daha çok kullanılmakta ve dikkat çekmektedir.²³⁹

TZP, özellikle yumuşak doku ve sert doku iyileşmesi ve iyileşme zamanının kısaltılması amacıyla kullanılan konsantre plazmada plateletlerin otolog konsantrasyonudur. Bu kadar çok kullanım alanı bulmasının sebebi iyi hazırlanmış TZP'de büyüme faktörlerinin yoğun olarak bulunmasıdır.²⁰

Büyüme faktörleri lokal ve sistemik etkileri bulunan biyolojik mediatörlerin bir formudur. Bu faktörlerin hücre migrasyonunu, bağlanmasını, proliferasyonunu, farklılaşmasını ve özelleşmiş hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak ekstraselüler matriks akümüleyasyonunu uyardıkları bilinmektedir. Bu reseptör-ligand etkileşimi kompleks ve özelleşmiş moleküler basamakları düzenleyici olaylarda rol oynayan mekanizma olarak ifade edilmektedir.^{240,241}

TZP'nin diş hekimliğinde kullanımı ile ilgili pek çok bilgi sağlayan Roberts²⁴², Sporn ve Marx TZP'de yüksek konsantrasyonda bulunan büyüme faktörlerinin varlığının direkt olarak hücre proliferasyonu, kolajen üretimini artırdığını, anjiyogenezisi başlattığını ve hücre farklılaşmasını uyardığını iddia etmişlerdir.^{239,243} TZP' de bulunan fibrinojenden fibrin oluşturarak yara veya kemik defekti bölgelerinde hemostaz ve stabilizasyonu sağlayıp, greft immobilizasyonuna yardımcı olunabileceğini bildirmişlerdir.²⁴⁴

TZP uygulamaları sistemik veya hematolojik rahatsızlıkları bulunan ve kanser riski taşıyan hastalarda büyüme faktörlerinin etkisinin öngörülemediği için önerilmemektedir.²⁴⁵

Yapılan çalışmalarda TZP'nin trombosit kaynaklı büyüme faktörü (Platelet derived growth factor, PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü beta (transforming growth factor beta, TGF- β), damarsal endotelial büyüme faktörü (vascular endotelial growth factor, VEGF), insülin bezeri büyüme faktörü (insulin like growth factor, IGF), endotelial büyüme faktörü (endotelial growth factor, EGF) ve fibroblast büyüme faktörü (fibroblast growth factor, FGF) gibi büyüme faktörlerinin önemli bir kaynağı olduğu gösterilmiştir.²⁰ ELİSA ile analiz edilerek kan ile karşılaştırıldığında TZP'de TGF-beta'da 7 kat, PDGF'de 30 kat ve EGF'de 10 kat artma olduğu görülmüştür.²⁴⁶

TZP antikoagülan varlığında hazırlanmakta ve pıhtılaşmanın aktive olacağı 10 dakika içinde kullanılmak üzere flep, yara iyileşmesi ve greft operasyonlarında uygulanmaktadır.²⁰ Geleneksel olarak klinikte otolog trombin ve CaCl₂ (kalsiyum klorür) ile aktive olan plateletler tarafından 10 dakika içinde büyüme faktörlerinin %95'i ilk bir saat içinde salınmakta ve doku ile kemik grefti mikro çevresine doğru konsantrasyon durumuna göre basit difüzyon yolu ile ilerlemektedir. Aktive plateletlerin spesifik mikro çevrede sınırlı kalmaları önemlidir. Aktive plateletlerin kan dolaşımına katılmaları durumunda dönüşümsüz yan etkileri olabilmektedir. Ancak TZP karışımının viskozitesi ve greft materyalinden meydana gelen mikroçevre göz önünde bulundurulduğunda bunun gerçekleşme olasılığının minimuma indiği ortaya çıkmaktadır.²³⁹

Büyüme faktörlerinin iyileşme üzerine olumlu etkisini araştıran çalışmaların aksine ortaya konan çelişkili sonuçlar TZP'nin günümüzde kullanımını sınırlandırmaktadır. TZP'nin kemik greftleri ile kullanımının yararı tartışmalı ve belirsizdir. Bütün araştırmacıların katıldıkları ortak nokta TZP'nin biyolojik bir adeziv madde olarak kabul edilmesidir. TZP'nin yeni kemik formasyonunun kalite ve miktarını artırıp artırmadığının anlaşılması için çalışmaların yapılması gerektiği bildirilmekle birlikte ;kemik iyileşmesi mekanizması ve immünobiyolojik olayların, platelet biyolojisinin, büyüme faktörlerinin fonksiyonlarının karmaşıklığı dolayısıyla osteogenezisteki ve yara iyileşmesindeki biyolojik katkılarının maskelenebileceği belirtilmiştir.²⁴⁷ TZP'yi kemik içi defektlerde, çekim bölgelerinde, kret augmentasyon veya sinus augmentasyon işlemlerinde kullanıp kullanmama durumu da TZP'nin içerdiği büyüme faktörlerinin hücre migrasyonunda, farklılaşmasında, maturasyonunda, anjiogeneziste ve kolajen üretiminde etkili olacağı düşüncesine dayanmaktadır.²⁴³

2.3.5.1. Plateletler ve trombositen zengin plazma

Plateletler kemik iliğindeki megakaryositlerden özelleşmiş bir hücre bölünmesi ile oluşan çekirdeksiz hücrelerdir.²⁴⁸ Plateletlerin doku rejenerasyonunda, anjiogeneziste, hücre bölünmesinde ve inflamasyondaki görevleri 30 yıl önce ortaya konmuştur. 1970'lerde Folkman²⁴⁹ ile Pinedo ve ark.²⁵⁰ plateletlerin tümör anjiogenezisinde yer aldığını göstermişlerdir. O zamandan beri platelet aktivasyonunun moleküler mekanizması ve bunların doku rejenerasyonu, anjiogenezis ve yara iyileşmesi sürecine katkılarını açıklamak için pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda plateletlerin lökositler, endotelial hücreler ve kemik iliği kaynaklı progenitor hücreler ile etkileştiğini, kemotaksis,

aterotrombozis, koagülasyon ve hücre farklılaşması ile inflamatuvar cevapları düzenleyen otokrin ve parakrin aktivasyonları tetiklediği gösterilmiştir.^{241,248,249,251-253} Bu cevapların ise büyüme faktörleri, koagülasyon faktörleri, kemokinler ve integrinler adı verilen ve platelet bölünmesi ve transferi öncesi megakaryosit granüler veziküllerinde sentezlenerek paketlenen sekretuar moleküller tarafından başlatıldığı bildirilmiştir.^{252,253}

Plateletlerde alfa granüller, lizozomlar ve dense-core granüller olmak üzere 3 tip vezikül bulunmaktadır. Büyüme faktörleri gibi anahtar moleküller zimojenik safhada alfa granüllerinde saklanmaktadır. Lizozomlar proteolitik enzimler ve asit-hidrolaz enzimleri barındırmaktadır. Dense-core granüllerde ise adenosin di-phosphate, thromboxane A2 ve serotonin gibi bazı platelet agonistleri bulunmaktadır.²⁴¹

Plateletlerin protein moleküllerinin hızlı bir şekilde saklanması ve salınmasını sağlayan karmaşık bir membran yapısı bulunmaktadır. Bu moleküller adezyon moleküllerinin (fibronektin, fibrinojen, von Willebrand factor, thrombospondin ve glikoprotein IIb/IIIa), büyüme faktörleri (PDGF, TGF-alfa ve beta, EGF, bFGF, VEGF ve IGF), kemokin (RANTES[CCL5], platelet factor-4, makrofaj inflamatuvar protein-1 alfa), sitokinler (IL-1 β ve sCD40L ve beta tromboglobulin) ve koagülasyon faktörleri gibi birçok moleküllerin karışımıdır.^{241,248,253} Bütün moleküller inflamasyon, hücre proliferasyonu, farklılaşma ve rejenerasyonun tetiklenmesinde birlikte rol oynamaktadır. Ortopedik ve travmatik cerrahide doku mühendisliği ile büyüme faktörlerinin kullanımı kemik ve eklem defektlerinin tedavisi için en önemli gelişme olarak kabul edilmektedir. PDGF, TGF- β ve IGF kemik rejenerasyonu ve doku remodelingi için anahtar büyüme faktörleri olarak düşünülmektedir. Plateletlerdeki bu

büyüme faktörlerinin varlığı, platelet konsantrasyonunun doku rejenerasyonu için klinik kullanımlarını gündeme getirmiştir.^{241,245}

Platelet degranulasyonu sırasında PDGF, TGF- β 1/2 ve IGF-1/2 salınımı kemik rejenerasyonu prosesini başlatmaktadır. PDGF, platelet ve makrofajlarda bulunan ve mezenşimal hücreler için mitojen ve kemoatraktan görevi yapan 30-kD'luk bir glikoproteindir.^{241,248} Travma bölgesindeki ilk büyüme faktörü olan PDGF; kollajen sentezini, kök hücreleri ile osteoblastların mitogenezisini tetiklemektedir.^{241,245} Periodontal ligament ve osteoblast öncülleri hücreleri üzerinde mitojenik etkileri bulunmakla birlikte diğer büyüme faktörlerinin fonksiyonlarını da düzenler.²³⁸

PDGF gibi TGF- β 1/2 de platelet ve makrofajlarda üretilmektedir. Bu molekül 25 kD ağırlığında olup özellikle fibroblastlarda, farklılaşmamış ilik hücrelerinde ve preosteoblastlarda etkili olmaktadır. TGF- β 1/2 uzun dönem iyileşme doku remodelingi mekanizmalarında önemli rol oynamaktadır.²⁴⁵

IGF-1/2 7,7 kD ve 7,5 kD ağırlıklarında olmak üzere PDGF ve TGF moleküllerine göre daha hafif büyüme faktörleridir. IGF'nin preosteoblast farklılaşmasında ve osteoblast akümüülasyonunda tetikleyici bir mitojen olduğu düşünülmektedir.²⁴⁵

Bu büyüme faktörlerine ek olarak VEGF ve EGF'nin de anjiogeneziste, bazal membran formasyonunda ve endotelial farklılaşmada rol oynadığı gösterilmiştir.²⁴⁵

Bu büyüme faktörlerinin dışında platelet kaynaklı kemokinler ve sitokinler makrofaj ve NK hücreler gibi inflamatuvar hücrelerin, vasküler endotelyal hücrelerin ve kök hücrelerinin sağlık durumunun devamı ve travma bölgesinin iyileşmesi için uyarılmasında rol oynamaktadırlar.²¹

Plateletlerin yaralanma bölgesinde 7-10 günlük bir yaşam süreleri bulunmaktadır. Ancak platelet degranulasyonu ve aktivasyonunun hemen ardından platelet yaşam döngüsünün sonuna kadar ani bir platelet kaynaklı faktörlerin salınımı yaşanmaktadır.²⁵¹ Bununla birlikte kemotaksise bağlı olarak bölgeye göç eden monositler, makrofajlar ve dendritik hücreler büyüme faktörü salınımına devam etmektedir, inflamatuvar sitokinler plateletler yok olduktan sonra da ortamda kalmaktadırlar. Bu mekanizma ile iyileşme zamanı kısaltmakta ve daha kaliteli bir iyileşme sağlatılmış olmaktadır. Bir platelet konsantrisinde büyüme faktörleri ve diğer platelet kaynaklı faktörler çok daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Bu da TZP' nin kana göre yaklaşık %338 daha fazla miktarda platelet konsantrasyonuna sahip olması ile açıklanmaktadır. Bu yüzden yalnızca büyüme faktörlerinin değil, aktivasyon döngülerinde (inflamasyon, hücre uyarılması ve farklılaşması ile koagülasyon kaskatları gibi) görev alan bütün moleküller doku rejenerasyonu ve yara iyileşmesinde etkili olmaktadır.²⁵³

TZP' de büyüme faktörlerinin kana göre fazla olduğu (PDGF 30 kat, TGF- β 1/2 7 kat fazla) immunolojik yöntemlerle kanıtlanmıştır.²⁴⁶ TZP'nin etkinliği dozajına, konsantrasyonuna ve konsantrenin elde edildiği metod veya tekniğe göre değişiklik göstermektedir. Günümüzde kullanılan TZP metodları ile plateletler %300 ile %700 arasında zenginleştirilerek

kanda normalde 15,000-400,000 platelet/ μ l olan sayı >1,000,000 platelet/ μ l sayısına çıkmaktadır.^{254,255} Böylece elde edilen TZP'nin %94 'ü platelet konsantrasyonu, kalan %6 ise kırmızı ve beyaz kan hücreleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Plateletlerin bu artmış konsantrasyonu travma bölgesinde büyüme faktörü konsantrasyonunu artırarak yara iyileşmesi potansiyelini de artırmaktadır.

Birçok TZP konsantrasyonu metodu bulunmaktadır. Ancak genel olarak bütün sistemler benzer mekanizma ile çalışmaktadır. Hastanın venöz kanından alınan bir miktarının iki aşamalı olarak santrifüj edilerek TZP'nin kırmızı ve beyaz kan hücrelerinden arındırılması sonucu plateletlerin bol miktarda olduğu bir konsantre elde etme esasına dayanmaktadır. Literatürde farklı metodlarda farklı platelet ve büyüme faktörleri elde edildiği ayrıntılı olarak yer almıştır.²⁵⁴⁻²⁵⁹

Periodontal rejeneratif tedavide TZP'nin büyüme faktörü kaynağı olarak kullanımı,

- Güvenli olması (hastanın kendi kanından elde edildiği için hastalık geçişi ve toksisite riski yoktur)
- Kullanımının kolay olması
- Hızlı iyileşmeye katkısının olması
- Hastalar tarafından kolay kabul edilebilir olması sebebiyle avantajlı hale gelmiştir.

2.3.5.2. TZP'nin Sert Dokuda İyileşmeye Etkisi

Dolaşımdaki plateletler kanda bulunan faktörlere cevapta aktivasyon durumuna ve kandaki sayısına göre doğal yara iyileşmesinde rol oynamaktadır.^{255,260-262} Aktivasyon prosesi, plateletlerde önemli morfolojik ve yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Granüller plateletlerin yüzeyine doğru hareket etmekte ve membranla birleştiğinde büyüme faktörlerinin salınımının aktive olması ile yara iyileşmesi gerçekleşmektedir. Sert ve yumuşak dokuların iyileşmesi oldukça sinyal proteinlerinin yönetiminde karmaşık hücre içi ve dışı olaylar sonucu meydana gelmektedir. TZP ve greft materyali karışımında bulunan yüksek konsantrasyondaki büyüme faktörleri fizyolojik olarak oluşan pıhtıya göre osteogenezis için daha anlamlı bir cevap oluşturmaktadır.²¹

İlk 20 gün içinde artan vaskularizasyonun ardından 3-6 hafta içinde olgunlaşmamış kemik veya osteoid doku oluşturan osteoblast aktivitesinde artış olduğuna dair bulgular saptanmıştır. Yara alanında artan osteoblast aktivitesi ile daha sert ve olgun kemik oluşumu için olgulaşma süreci devam etmektedir.²⁵⁶ Hücresele düzeyde TZP'nin, osteoblastları ve fibroblastları etkilediği görülmüştür ve etkisinin osteoindüktiften ziyade osteojenik olduğu belirtilmiştir.^{20,263}

Marx, TZP'nin alloplastik veya ksenojenik greftlerle kullanımından otojen greftlerle kullanımının daha yararlı olduğunu iddia etmiştir. Mandibuler rekonstrüksiyon yapılan bir çalışmada TZP ile kullanılan greftlerde 1,6-2,2 kat daha fazla maturasyon elde edildiği görülmüştür.²⁶⁴ Aynı çalışmada TZP'li bölgelerde histomorfometrik olarak daha fazla trabeküler kemik oluşmuştur. TZP'nin yalnızca otojen kemikle kullanımında değil diğer greft materyalleri ile kullanımında da yara

iyileşmesini düzenlediği, iyileşme zamanını kısalttığı ve donör bölgenin morbiditesini azalttığı görülmüştür.²⁶⁵⁻²⁶⁷ Fennis ve ark. TZP'yi otojen greft ile kullandıklarında test bölgelerinde anlamlı derecede fazla kemik iyileşmesi saptadıklarını bildirmişlerdir.²⁶⁸

TZP'nin otojen kemik grefti ile uygulandığı diğer çalışmalarda ise biyokimyasal, radyografik ve klinik açıdan bir fark yaratmadığı ancak yara iyileşmesinin test gruplarında daha hızlı olduğu bildirilmiştir.^{13,269,270}

TZP'nin periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde greft materyalleri ile birlikte kullanımını değerlendiren çalışmalarda²⁷¹⁻²⁷³ TZP ve sığır kaynaklı kemik grefti birlikteliğinin tek başına greft uygulamasına göre daha başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür.²⁷² TZP'nin etkinliğinin pöröz hidroksiapatit ile birlikte değerlendirildiği bir diğer çalışmada greft ile birlikte uygulandığında klinik ataşman kazancı olarak daha iyi sonuçlar verdiği, radyografik olarak herhangi bir fark olmadığı görülmüştür.²⁷³ Doğal kemik minerali EMD ile birlikte uygulamasında ise klinik olarak herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.²⁷¹ İlgenli ve ark. kemik içi defektlerde TZP'nin allogreftle uygulamasını yalnız TZP ile karşılaştırdıkları çalışmalarında TZP'nin greft ile daha etkili olduğunu bulduklarını bildirmişlerdir.²⁷⁴ Özdemir ve ark. ise TZP'nin betatrikalsiyumfosfat ile birlikteliğinde etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında gruplar arasında herhangi bir fark bulmadıklarını bildirmişlerdir. Ancak yapılan pek çok benzer çalışmaya rağmen halen bu konuda kesin bir sonuca ulaşılamamıştır.^{14,18,275-281}

Marx ve ark. TZP'nin hücresel olmayan greft materyalleri ile uygulandıkları zaman etkisiz kaldığı bunun sebebinin ise büyüme

faktörlerinin yalnızca vital hücreler üzerine etkiliğinin olabileceğini bildirmişlerdir.²³⁹

TZP'nin YDR ile birlikte kullanımının etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalarda da çelişkili sonuçlar elde edildiği gözlenmektedir. Döri ve ark. TZP greft ve membranla birlikte uygulandıklarında klinik ölçümlerde TZP'nin herhangi bir yararının olmadığını tespit etmişlerdir.²⁸² Benzer bir diğer çalışmada Lekovic ve ark. TZP'ye ek olarak membran uygulamasının da herhangi bir etki yaratmadığını bildirmişlerdir.¹⁷ Yassıbağ-Berkman ve ark. kollajen membran ve alloplastik greft materyali ile birlikte TZP kullanımında, TZP'nin herhangi bir fark yaratmadığını gözlemlemişlerdir.²⁸³ Camargo ve ark.'ın TZP'nin greft ve membranla kullanımının yalnızca membran ile karşılaştırdıkları çalışmalarında ise TZP'li grubun klinik olarak daha başarılı olduğu görülmüştür.²⁴⁴

Kemik içi defektlerde yalnız TZP uygulamasının değerlendirildiği çalışmalarda da sonuçlar çelişkilidir. Hayvanlarda yapılan çalışmalarda kemik oluşumuna bir katkısının olmadığı görülmüştür.²⁷⁵ TZP'nin çekim soketlerinde uygulamasında ise epitelizeasyon ve kemik yoğunluğu üzerine etkisinin olduğu, alveolit riskini azalttığı ve kemik iyileşmesini olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir.¹⁶

2.3.5.3. TZP'nin Yumuşak Dokuda İyileşmeye Etkisi

TZP'nin yumuşak doku iyileşmesinde de pozitif etkisinin olduğu bilinmektedir.^{20,284-286} VEGF, PDGF ve IGF gibi büyüme faktörleri

bölgede beslenme kaynaklarını artırarak angiogenezi indükleyip iyileşme zamanını kısaltmaktadır.^{241,243,249,253} TGF- β yara bölgesinde kollajen sentezini uyararak matriks formasyonunu artırmakta böylece hasarlı dokuda daha hızlı iyileşmeyi uyararak antiinflamatuvar etki yaratmaktadır. TZP kullanımında ilk bir haftada yara iyileşmesinde dramatik değişiklikler yaşanmaktadır.²⁵³ Yumuşak dokunun iyileşme kalitesindeki bu değişim materyalin periodontal prosedürlerde, dermal greftlerde ve fasiyal rekonstruksiyon işlemlerinde ve implant uygulamalarında da kullanımını gündeme getirmiştir.^{265,286-288}

Özellikle maksillofasiyal cerrahi ve periodontal cerrahide TZP'nin kullanımının temel mantığı, yara bölgesindeki platelet miktarını arttırmaktır.²⁸⁹ Plateletler, hem pıhtı formasyonundaki rolleri, hem de yara iyileşmesini başlatan ve destekleyen büyüme faktörlerini salgılamalarıyla, yara iyileşmesinde primer olarak görev yapmaktadır. Platelet sayısının bölgede artırılması, dolayısıyla platelet kaynaklı büyüme faktörlerinin yara bölgesindeki lokal konsantrasyonunun arttırılmasını sağlamaktadır.²⁹⁰ Böylece başlangıç yara iyileşmesi ve rejenerasyonunun hızlandırmak ve sonuçta elde edilecek yeni dokunun kalite ve kantitesinin artırılması hedeflenmektedir.

2.4. Periodontal Rejeneratif Tedavinin Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Periodontal tedavinin teşhis ve tanısında kullanılan en önemli göstergelerden biri olan sondlama işlemi rejeneratif tedavinin sonucunun belirlenmesi için de önemli ölçütlerden biridir. Rejenerasyon sonucu olduğu kadar azalan enflamasyon, dişeti çekilmesi neticesinde de

periodontal sondlama derinliğinde azalmalar meydana gelmektedir. Bu yüzden tedavinin etkinliğinin belirlenmesinde ve kök yüzeyindeki gerçek ataşmanı göstermekte sondlama işlemi yeterli bir gösterge gibi gözükmemektedir. İnflamasyonun eliminasyonu ile sondun penetrasyonuna direnci artan doku yeni ataşman oluşumu algısını yaratabilmektedir.¹⁵⁶ Bunun için kemiğin direk ölçümüne izin veren kemiğin sondlanması ve reentry işlemleri uygulanabilmektedir.^{163,291} Ancak hem invaziv olmaları hem de yeni periodontal ligament yapımını göstermekte yetersiz kaldıkları için rutinde kullanılmamaktadır.^{163,164,291}

Yeni tedavi yöntemleri deneme aşamasında iken histolojik çalışmalarla da etkinliğinin ortaya konulması gerekmektedir. Rejeneratif işlemler sonucu yeni ataşman oluşumu hem insan ^{187,292} hem hayvan modelinde gösterilmiştir.²⁹³ Uzun süreli sonuç ve yararlarının değerlendirilebilmesi içinse klinik ve radyografik ölçümlerin kullanılması önerilmektedir.¹⁵⁶

Bütün bu bilgilerin ışığında bu çalışmanın amacı kronik periodontitisli bireylerde kemik içi defektlerin tedavisinde TZP (Trombositten Zengin Plazma) kullanımının etkinliğinin biyokimyasal, klinik ve radyografik olarak değerlendirilmesidir.

TZP'nin sıgır kaynaklı kemik greftinin yalnız veya birlikte kullanımı sonucunda kemik iyileşmesine katkısını moleküler düzeyde gözlemleyebilmek amacıyla OPG/RANKL, IL-17, IL-1 β düzeylerinin diş eti oluşu sıvısında analiz edilmesi çalışmanın biyokimyasal boyutunu oluşturmuştur.

Bu amaca yönelik olarak 15 hastada bilateral defekt olması koşulu ile (split mouth) 15 defekte TZP ile birlikte sığır kaynaklı kemik grefti (Bio-Oss), 15 defekte yalnız sığır kaynaklı kemik grefti uygulanarak TZP'nin etkinliğinin diş eti oluğu sıvısındaki sitokinlerin miktarlarındaki değişimler ile değerlendirilmesi planlanmıştır. Uygulama öncesi, 3 ay ve 6 ay sonrasında diş eti oluğu sıvısı örneği osteoprotegerin (OPG) ve reseptör aktivatör NF- κ B ligand (RANKL), IL-1 β ve IL-17 düzeyleri ölçülmek üzere alınmıştır. Uygulama öncesi, 3 ve 6 ay sonrası klinik ve radyografik parametreler değerlendirilmiştir.

Bu çalışmanın sonucunda elde edilen veriler ile kemik içi defektlerin tedavisinde kullanılan yöntemlerin etkinliğini değerlendirerek yeni tedavi yöntemlerine katkıda bulunulması hedeflenmiştir. Bu çalışma ile benzer çalışma protokolüne sahip bir çalışmaya literatür taramasında rastlanmamıştır. Bu çalışma ile elde edilecek verilerin, periodontal hastalık sonucu oluşan kemik içi defektlerinin iyileşme potansiyeline ilişkin önemli bir kaynak olarak değerlendirileceğine inanılmaktadır.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya dahil edilecek bireyler periodontal tedavi amacı ile Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran hastalar arasından seçilmiştir. Çalışma öncesinde projeye dahil edilmesi planlanan tüm bireylere projenin içeriği ve amacı hakkında bilgi verilerek onayları alınmıştır. Ayrıca çalışma öncesinde çalışma protokolü ile ilgili Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurulu onayı alınmıştır (29.12.2008/42).

Bireylerin dahil edilme kriterleri:

1. Sistemik olarak sağlıklı olmak
2. Sigara kullanmamak
3. Çalışma tarihinden önceki 3 ay içerisinde uzun dönemli (2 hafta ve daha uzun süreli) antibiyotik tedavisi görmemiş olmak
4. Aktif enfeksiyöz bir hastalığı (hepatit, tüberküloz, HIV gibi) olmamak
5. Hamile yada hamilelik planlıyor olmamak
6. Son 6 ay içerisinde herhangi bir periodontal tedavi görmemiş olmak
7. Çalışma sonuçlarını, yara iyileşmesini ve pıhtılaşma mekanizmalarını etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanmıyor olmak
8. Ortodontik tedavi görmüyor olmak
9. Uygulanan faz-1 tedavisi sonrası optimum oral hijyene sahip olmak
10. İnterproksimal alanda periapikal radyografilerle desteklenmiş, benzer en az 4 adet periodontal sondlama cep derinliği 6mm ve üzerinde olan kemik içi defekte sahip olmak
11. Kemik içi defektlerin lokalize olduğu dişlerde mobilite bulunmaması
12. Kemik içi defetlerin aynı interproksimal alanda veya aynı dişte lokalize olmamaları

13. Kemik içi defektlerin mandibuler ya da maksiller anterior ve premolar dişlerde, mandibuler birinci molarların mezial köküne lokalize interproksimal alanlarda olmaları
14. Kemik içi defekt bölgesinde keratinize diş eti genişliğinin cerrahi manipülasyon, flep adaptasyonu ve sütür için elverişli olabilmesi amacıyla en az 2-3mm olması
15. Kemik defektlerin lokalize olduğu dişlerin vital olmaları ve bu dişlerde herhangi bir endodontik ve protetik restorasyon bulunmaması kriterlerine uyum gösteren 41-55 yaş arasında 8 erkek , 7 kadın olmak üzere 15 hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen bireylerden çalışmanın başlangıcında plak indeksi (PI, Silness ve Loe 1964)²⁹⁴, gingival indeks (GI, Loe ve Silness 1963)²⁹⁵, cep derinliği (CD), klinik ataşman seviyesi (KAS), mine-sement sınırı ve gingival kenar arası dişeti çekilmesi (DEÇ) ve sondlamada kanama (SK, Mühlemann ve Son 1971)²⁹⁶ klinik verileri alınarak kaydedilmiş, kemik içi defektlerin tespiti için radyografiler alınmıştır. Oral hijyen eğitimini takiben haftada bir olmak üzere 4 seans periodontal el aletleri* ve ultrasonik aletlerden† yararlanılarak supragingival ve subgingival diştaşı temizliği, subgingival küretaj ve kök yüzeyi düzeltmesini içeren periodontal başlangıç tedavileri (faz-1) uygulanmıştır.

Faz -1 tedavisinin bitiminden 4 hafta sonra hastalar klinik ölçümler tekrarlanarak değerlendirilmiş, en az iki kemik içi defekt bölgesinde 6 mm ve üstü sondlama derinliğine sahip bireyler saptanarak, hastalığın tedavisi ve prognozu hakkında açıklamalar yapılarak hastalardan onay alındıktan sonra tedavilerine devam edilmiştir. Faz-1

* Hu-Friedy Manufacturing Co. Inc., Chicago, IL, USA.

† Satelec, Inc., Narbonne, France

tedavisinden 4 hafta sonra kaydedilen klinik ölçümler başlangıç değerleri olarak kabul edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastalardan klinik olarak ve radyografi yardımı ile saptanan kemik içi defektler arasında operasyon sırasında kemik içi komponentleri 3-4 mm aralığında olan ve 2-3 duvarlı morfolojiye sahip olan 30 adet kemik içi defekt çalışmamıza dahil edilmiştir. Her hastada hem test hem kontrol bölgesi yer alacak şekilde seçilmiş defektlerin (split-mouth) 15'i test, 15'i kontrol grubunu rastgele oluşturmuştur.

3.1. Hastaların Periodontal Durumlarının Klinik ve Radyografik Değerlendirilmesi

Tedavi öncesi (başlangıç), tedaviden 3 ay ve 6 ay sonra PI, GI, CD, KAS, DEÇ ve SK ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Klinik indeks ölçümleri disto-bukkal, mid-bukkal, mezio-bukkal, disto-lingual, mezio-lingual ve mid-lingual olmak üzere her bir dişin 6 noktasından 0,5 mm çapında Williams tipi sond* kullanılarak yapılmıştır. Defekt bölgelerinin cep derinliği, klinik ataşman seviyesi silikon stent yardımı ile ölçülmüştür.

Radyografiler uzun kon paralel tekniği ve direk dijital radyografi tekniği kullanılarak elde edilmiştir (Resim 1). Periapikal radyografilerde başlangıç, 3 ve 6. aylarda ağız içi dijital radyografi sensörü†, dijital radyografi görüntüleme bilgisayar programı* ile paralellik

* Nordent Manufacturing Inc., Elk Grove Village, IL, USA.

† RVG 5000, Eastman Kodak, Rochester, NY

ve standardizasyonun elde edilebilmesi için tüpe adapte olacak şekilde üretilmiş sensör sistemi[†] kullanılmıştır (Resim 2). Tüm radyografiler aynı kilowatt ve miliamperdeki (90 Kvp ve 10 mA) röntgen cihazı ile elde edilmiştir (Resim 3).

Radyografilerin elde edilmesinde, optimum standardizasyon için her hastaya ve her defekt bölgesine özel olarak hazırlanmış elastomerik ölçü maddesinden[‡] (Resim 4) silikon ısırma stentleri kullanılmıştır (Resim 5).



Resim 2: Uzun kon paralel tekniği ile periapikal radyografilerin elde edilmesi



Resim 2: Dijital radyografi sensörü



Resim 3: Röntgen cihazı



Resim 4 : Elastomerik ölçü maddesi



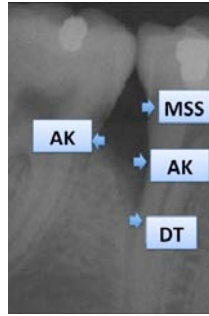
Resim 5: Silikon ısırma stendi

* Trophy Windows Imaging Software[®] version 4.2, Trophy Radiologie S.A. Headquarters, Fr

[†] XCP-DS[®], Sensor Positioning Systems for Kodak Trophy RVG[®] Digital Sensors, Dentsply Rinn[®], Dentsply Int, Inc., USA.

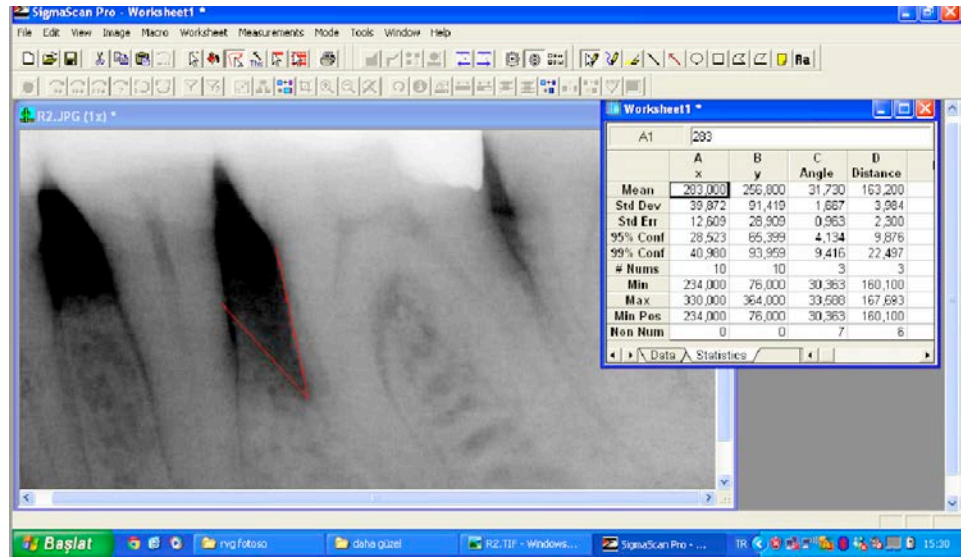
[‡] Zetaplus, Zhermack, Rovigo, Italy

Başlangıç , 3 ve 6. ayda elde edilen periapikal radyografiler, bir başka bilgisayar programına* aktarılarak anatomik sınırlar esas alınarak doğrusal ölçümler yapılmıştır. Anatomik sınırlar defekt tabanı (alveol kretinin kök yüzeyi ile temas ettiği nokta, DT), alveoler kret tepesi (AK) ve mine-sement sınırı (MSS) olarak belirlenmiştir (Resim 6). Buna göre MSS ve DT arasındaki mesafenin 3. ve 6. aydaki değişimi ölçülerek radyografik kemik içi defekt derinliği (vertikal kemik yüksekliği değişimi), AK ve DT arasındaki mesafenin 3. ve 6. aydaki değişimi ölçülerek defekt dolumu (defekt çözünümü), MSS ile defekt tabanını birleştiren çizgi ile kemik içi defekte komşu dişteki alveoler kemiğin en koronal sınırı arasındaki açının başlangıça göre üçüncü ve altıncı aydaki değişiminin ölçülmesi ile defekt açısı hesaplanmıştır (Resim 7).

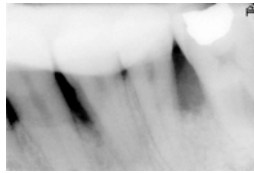


Resim 6: Anatomik sınırlar
MSS: Mine-sement sınırı
AK: Alveoler kret tepesi
DT: Defekt tabanı

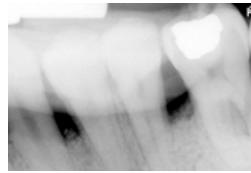
* Pro, SigmaScan, Image-processing Software, ver. 5.0, Systat Software. Inc., Point Richmond, CA.



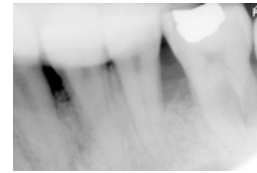
Resim 7: Radyografi üzerinde doğrusal ölçümlerin yapılması



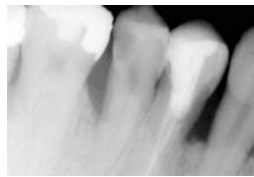
Resim 8: Test grubu başlangıç radyografisi



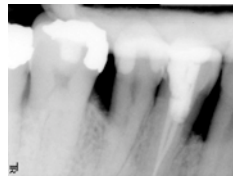
Resim 9: Test grubu 3. ay radyografisi



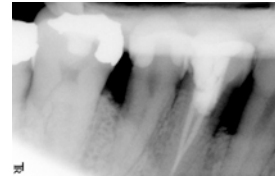
Resim 10: Test grubu 6. ay radyografisi



Resim 11: Kontrol grubu başlangıç radyografisi



Resim 12: Kontrol grubu 3. ay radyografisi



Resim 13: Kontrol grubu 6. ay radyografisi

3.2. Diş eti oluğu sıvısı örneklerinin alınması ve laboratuvar işlemleri

Çalışmaya dahil edilen hastaların periodontal klinik ve radyografik durumlarının belirlenmesinin ardından operasyon öncesi (başlangıç), 3 ve 6 ay sonrasında DOS OPG, RANKL, IL-17 ve IL-1 β total miktar ve konsantrasyonlarının belirlenebilmesi için DOS örnekleri alınmıştır.

Diş eti oluğu sıvısı örnekleri bu amaçla özel olarak hazırlanmış 2x8 mm'lik periopaper* yardımı ile elde edilmiştir. Örnek alınacak bölgeler tükürük kontaminasyonundan kaçınmak amacıyla işlem öncesi steril tamponlarla tükürükten izole edilmiştir. Daha sonra bölgeden supragingival plak uzaklaştırılıp, diş yüzeyleri hava sıkılarak kurutulmuştur. Kağıt stripler orta derecede basınç hissedilinceye kadar cep içerisine yerleştirilmiş ve 30 saniye bekletilmiştir. Periotron 8000[†] ile ilgili kağıt şeritlerdeki dişeti oluğu sıvısının miktarı ölçülmüştür. Yapılan ölçümler yazılım programı[‡] yardımı ile mikrolitreye çevrilip her örnek alınan bölgeden elde edilen ölçümlerin ortalaması alınarak, her bir örnek bölgesi için DOS hacmi hesaplanmıştır. Kanama ile kontamine olan kağıt şeritler işlem dışı tutularak, örnekler laboratuvar aşamasına kadar -20°C 'de saklanmıştır.

* Periopaper strips, OraFlow, Amityville, NY

[†] Periotron 8000, OraFlow, Amityville, NY

[‡] MLCONVERT.exe software version 2.52, OraFlow, Amityville, NY

3.2.1. DOS'ta İnterlökin-1 β Miktarının Belirlenmesi

Diş eti oluğu sıvısının örnekleri ekstraksiyon için 200 ml %0.5 'lik bovine serum albüminli Hank's balanced salt solusyonunda çözülmüş, daha sonra 3000xg de santrifüj edilmiştir. Elde edilen diş eti oluğu sıvısı örneklerindeki sitokin miktarlarının tayini ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) kitleri kullanılarak üretici firmanın önerdiği prosedüre uygun olarak yapılmıştır. Buna göre DOS'ta IL-1 β konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla Instant ELISA* yöntemi kullanılmıştır.

3.2.1.1. Test Prensipleri

Test içerisinde hazır olarak sunulan ve “anti-human mikrokuyucuklar IL-1 β coating” antikoru emdirilmiş mikrokuyucuklara örnek ve standartlarda bulunan IL-1 β bağlanmaktadır. Biotin ile konjuge edilmiş olan monoklonal anti-human IL-1 β antikoru, ilk antikorun yakalamış olduğu human IL-1 β ile reaksiyona girmektedir. Streptavidin-HRP (streptavidin-horseradish peroxidase), biotin ile konjuge edilmiş olan monoklonal anti-human IL-1 β 'ya bağlanmaktadır.

İnkübasyonun ardından “biotin ile konjuge edilmiş olan monoklonal anti-human IL-1 β ” ve streptavidin-HRP yıkama ile uzaklaştırılıp HRP ile reaktif substrat solusyonu eklenmektedir.

* eBioscience Bendermed Human IL-1 β Instant Elisa, San Diego, CA

Örneklerdeki IL-1 β oranına göre renkli bir ürün oluşmaktadır. Reaksiyon asitle durdurularak sonlandırılıp absorbansı 450 nm olan spektrofotometrede ölçülüp standart eğrisi elde edilir ve örneklerdeki IL-1 β konsantrasyonu hesaplanmaktadır.

3.2.1.2. Laboratuvar İşlemleri

1. Tüm örnek ve standart mikrokuyucuklarına 100 μ l distile su eklenmekte,
2. Her örnekten mikrokuyucuklara 50 μ l eklenmekte,
3. Mikrokuyucukların bulunduğu plak yapışkan filmle kapatılarak oda sıcaklığında 3 saat bekletilmekte,
4. Film uzaklaştırılıp, mikrokuyucuklar 400 μ l yıkama solusyonu ile 6 kez yıkanmakta,
5. Tüm mikrokuyucuklara 100 μ l TMB (tetramethylbenzidine) substrat solusyonu uygulanmakta (Resim 14),
6. Plak oda ısısında 10 dk inkube edilmekte,
7. Her mikrokuyucuğa 100 μ l durdurma solusyonu eklenerek enzim reaksiyonu sonlandırılmakta ve sonuçlar spektrofotometre kullanılarak okunmakta (Resim 15),
8. Her mikrokuyucuk için absorbans değeri okunarak kaydedilmekte,
9. Standart mikrokuyucukların absorbans değerine göre bir standart eğri oluşturulup, IL-1 β konsantrasyon değerleri bu eğri üzerinden okunarak belirlenmektedir.

DOS örneklerindeki OPG^{*} ve IL-17[†] miktarları IL-1 β ile aynı test prosedürleri uygulanarak pikogram (pg) olarak hesaplanmıştır. OPG, IL-17 ve IL-1 β konsantrasyonları ise total miktarın DOS hacmine bölünmesi ile hesaplanmıştır.

RANKL'ın DOS örneklerindeki miktarının tespiti edilmesinde yararlanılan ticari ELISA kitinin[‡] kullanımı sonucu, ilgili kitin hassasiyet seviyesinin örneklerde çok düşük miktarlarda bulunan RANKL'ın varlığını belirlemede yetersiz kaldığı görülmüştür.



Resim 14: Mikrokuyucuklara substrat solusyonu uygulanması



Resim 15: Mikrokuyucuklara durdurma solusyonu uygulanması

3.3. TZP'nin hazırlanması

Test bölgelerinin operasyonlarından yaklaşık 30 dakika önce hastalardan alınan kanlarla taze TZP hazırlanması için, bu amaca özel üretilmiş standart, steril, tek kullanımlık monovet ve enjektör setleri[§] (Resim 16) ile bu monovetlere uygun düzenlenmiş özel santrifüj cihazı^{**} (Resim 20), üretici firmanın talimatlarına uygun olarak kullanılmıştır.

* eBioscience Bendermed Human OPG Instant Elisa, San Diego, CA

† eBioscience Bendermed Human IL-17 Instant Elisa, San Diego, CA

‡ BioVendor-Laboratori Medicina, Brno, Czech Republic

§ Curasan, Pharma GmbH AG, Lindigstrab, Almanya

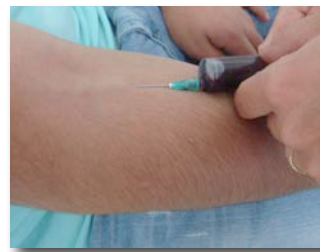
** Heraeus Labofuge 300, Kendro Laboratory Products, D-37520 Osterrade, Almanya

Kullanım kolaylığı açısından, üretici firma tarafından, kullanım sırasına göre bütün monovetler farklı renklerle işaretlenmişlerdir (Resim 16). Kullanım sırasına göre önce 0.5ml sitrat (%10'luk trisodyum sitrat) içeren kırmızı işaretli monovet ile enjektör seti, sonrasında ise sırasıyla mavi ve sarı işaretli setler ve son olarak ise hazırlanan TZP'nin uygulanma alanına taşınacağı yeşil işaretli enjektör kullanılmıştır.

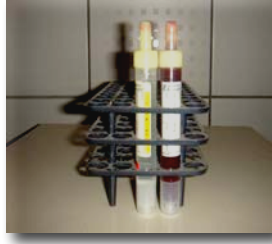
TZP hazırlanmasına başlanırken ilk önce hastadan 8.5 ml periferik venöz kan kırmızı işaretli sitratlı monovet içerisine alınmıştır (Resim 17). Bu aşamada sitrat varlığı ile kanın erken pıhtılaşmasını önlemek amaçlanmıştır. Alınan kan ile sitratın tam karışabilmesi için 3-4 defa monovet dikkatlice ters-yüz edilmiştir (Resim 18). Antikoagülan ile homojen temasın sağlandığı 0.5ml sitrat ve 8.5ml kan içeren monovet santrifüj cihazına yerleştirilmiştir. 2400 rpm devirde 10 dakika santrifügasyon uygulanmıştır (Resim 19-20).



Resim 16: Tek kullanımlık monovet ve enjektör setleri



Resim 17: Hastadan venöz kanın alınması



Resim 18: Alınan kanın sitratlı monovetin içinde yerini alması



Resim 19: Kan içeren monovetin santrifüj içine yerleştirilmesi

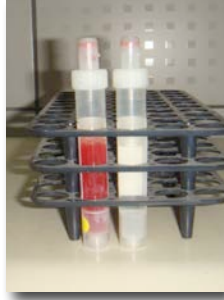


Resim 20: İlk santrifügasyon



Resim 21: Trombositten zengin ve fakir plazmanın sarı monovete alınması

Monovet santrifüjden yavaşça çıkartıldığında, bu ilk santrifügasyon sonrasında monovet içerisindeki kanın net olarak 2 kısma ayrıldığı görülmüştür. Üstteki sarı renkli kısım trombositlerden zengin ve fakir plazmadan oluşurken, alt tarafta görülen koyu kırmızı renkli kısımda ağırlıklı olarak eritrositler ve lökositler yer almıştır (Resim 21). Sarı renkli monovet yardımıyla, kırmızı işaretli monovetin üst kısımdaki plazma ve dolaşıma yeni katılan trombositleri içerdiği kabul edilen eritrositlerin üst 1-2mm'lik kısmı alınmıştır. Bu aşamada yaklaşık 4ml'lik plazma elde edilmiştir (Resim 22).



Resim 22: Sarı monovette elde edilen plazma



Resim 23: İkinci santrifüjasyon

Sarı işaretli monovete alınan, trombositten zengin ve fakir plazmayı içeren kısım 3400 rpm'de 15 dakika yeniden santrifüj edilmiştir (Resim 23). İkinci santrifüj işleminden sonra plazma trombositten zengin (altta) ve trombositten fakir (üstte) olmak üzere 2 kısma ayrılmıştır. Mavi renkli monovet yardımıyla üst kısımdaki trombositten fakir plazma uzaklaştırılmış (Resim 24), sarı renkli monovetin taban kısmında kalan yaklaşık 0,6-0.8ml'lik trombositten zengin plazma vorteks karıştırıcısında yaklaşık 20 saniye kadar karıştırılmıştır (Resim 25). Trombositten zengin plazma daha sonra sarı monovetten yeşil uygulama enjektörüne alınarak taze hazırlanmış TZP artık kullanıma hazır durumda getirilmiştir (Resim 26).



Resim 24: Mavi monovet ile trombositten fakir plazmanın uzaklaştırılması

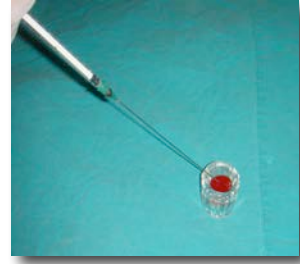


Resim 25: Trombositten zengin plazmanın vortekste karıştırılması

Steril cam godeye aktarılan greft materyali olarak seçilen Bio-Oss^{*} defekt bölgesinden elde edilen kan ile ıslatıldıktan sonra TZP ile karıştırılarak uygulamaya hazır duruma getirilmiştir (Resim 27).



Resim 26: Trombositten zengin plazmanın yeşil enjektöre alınması



Resim 27: TZP'nin greft ile karıştırılarak uygulanması

3.4. Cerrahi Protokol

Defekt bölgelerinde sırasıyla lokal infiltrasyon anestezisini takiben intrasulkuler insizyon, tam kalınlık mukoperiosteal flep kaldırılarak granülasyon dokularının debridmanı yapılmış, kök yüzeyleri düzleştirilmiş ve bölge serum fizyolojik ile yıkanarak greft uygulamasına hazırlanmıştır. Bu aşamada defektin kemik duvarı sayısının kontrolü yapılmıştır. Bölgelerin hazırlanması sonrasında defektlere

- Test bölgelerine Bio-Oss ile TZP (Resim 28,29),

^{*} **Bio-Oss®**, Geitslich Sons Ltd Wolhusen, Switzerland



Resim 28: Kemik içi defektin görünümü (Test grubu)



Resim 29: Greftin kemik içi defekte yerleştirilmesi (Test grubu)

- Kontrol bölgelerine Bio-Oss tek başına uygulanmıştır (Resim 30,31).



Resim 30: Kemik içi defektin görünümü (Kontrol grubu)



Resim 31: Greftin kemik içi defekte yerleştirilmesi (Kontrol grubu)

Uygulamalar sonrasında flepler, greft uygulanmış defekt bölgelerinin üzeri tamamen örtülecek şekilde kapatılarak kesintili suturelerle suturelenmiştir (Resim 32)



Resim 32: Operasyon bölgelerinin
sütürlenerek kapatılması

3.4.1. Post operatif Bakım

Operasyon sonrası oluşabilecek enfeksiyonun kontrolü için, hastalara postoperatif antibiyotik (Amoksisilin 500 mg tablet, 3x1) ve analjezik (Flurbiprofen 100 mg tablet 3x1) reçete edilmiştir.

Operasyon bölgelerinde travmaya neden olmamak için hastalar, operasyon sonrası en az 2 saat süre ile yememeleri ve içmemeleri konusunda uyarılmıştır.

Hastalara soğuk kompres uygulaması yapmaları, sıcak yiyecek ve içeceklerden kaçınmaları ve operasyon bölgesini travmalardan korumaları önerilmiştir. Operasyon bölgesinde en az 2 hafta boyunca diş fırçası ve diş ipi ile mekanik plak kontrolü yapmamaları, 2 hafta boyunca % 0,12'lik klorheksidin glukonat ile günde 2 kez şiddetli olmayan çalkalama yapmaları önerilmiştir.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamızda uygulanan tedavi yöntemlerinin karşılaştırılmasında kullanılacak örnek genişliklerinin (sample size) istatistiksel bir hataya neden olmasının belirlenmesinde güç analizi uygulanmış ve bu amaçla MINITAB panelinde “ Power and Sample Size” modülü çalıştırılmış ve yüksek güç değerine sahip uygun örneklem genişlikleri belirlenmiştir. Minitabta güç analizi (power) uygulanırken iki grup ortalamalarının karşılaştırılması baz alınmıştır. Bu analizi uygularken daha önceki çalışmalar örnek kabul edilerek grup ortalamaları arasındaki farkın 1, 2 ve 3 mm olduğu durumlar ele alınmış ve her durum için değişik güç değerlerinde farklı senaryolar elde edilerek her bir grup için gerekli ve yeterli örneklem sayısı belirlenmiştir. Bu analize göre, 2 mm ortalama farkın istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildiği senaryoda 0.996 güç değerine sahip 15 örneklem sayısı, çalışmamızda her bir gruptaki hasta sayısı olarak tercih edilmiştir (Tablo 1).

Çalışmamızda elde edilen değerlerin istatistiksel olarak karşılaştırılmasında, uygulanan her bir tedavinin zaman içindeki etkinliğinin grup içi incelenmesinde bağımlı iki gruba yönelik t testi (paired-t test); iki farklı tedavinin birbirleri ile olan ortalama farklılığının gruplar arası araştırılmasında ise bağımsız iki grubun karşılaştırıldığı bağımsız t testi (independent t test) kullanılmıştır. Son olarak değerler arasındaki ilişkilerin istatistiksel olarak önemli olup olmadığı Korelasyon analizi ile araştırılmıştır.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlarda istatistiksel olarak anlamlı farkları vurgulamak için $p < 0.05$ değeri baz alınmıştır. Burada bağımlı ve bağımsız gruplar arasındaki ortalamaların karşılaştırılmasında,

Pearson korelasyon katsayılarının hesaplanmasında ve tüm betimsel istatistiklerin elde edilmesinde SPSS 13.0 paket programı kullanılmıştır.

Tablo1: Gruplar arasındaki farkın 1, 2 ve 3 mm olduğu durumlar için güç analizi sonuçları

	"1 mm"	"2 mm"	"3 mm"
0.80	17	6	4
0.90	23	7	4
0.95	27	8	5
0.99	27	11	6
0.996	44	15	6

4. BULGULAR

Çalışmamıza 15 hasta üzerinde bilateral olmak üzere (split mouth) 30 defekt dahil edilmiştir. 15 defekte TZP ile birlikte sığır kaynaklı kemik grefti (test grubu), 15 defekte yalnız sığır kaynaklı kemik grefti (kontrol grubu) uygulanarak TZP'nin etkinliği klinik, radyografik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Uygulama öncesi, 3 ay ve 6 ay sonrasında klinik ve radyografik ölçümler yapıldıktan sonra diş eti oluşu sıvısı örneği osteoprotegerin (OPG) ve reseptör aktivatör NF- κ B ligand (RANKL), IL-1 β ve IL-17 düzeyleri ölçülmek üzere alınmıştır. Uygulama öncesi, 3 ve 6 ay sonrası klinik, radyografik ve biyokimyasal parametreler kaydedilerek test ve kontrol grupları için zamanla meydana gelen değişimler tanımlanarak değerlendirilmiştir.

4.1. Klinik Bulgular

15 hastaya ait 30 defekte TZP ile birlikte sığır kaynaklı kemik grefti veya yalnızca sığır kaynaklı kemik grefti uygulamasının başlangıç, 3 ay ve 6 ay sonrası klinik parametrelerin ölçümleri grup içi ve gruplar arası olarak değerlendirilmiştir.

Test ve kontrol bölgelerine ait bulgular her bir değerlendirme dönemi için gruplar arası (Tablo 2, 3, 4) ve tüm çalışma dönemi boyunca grup içi olarak değerlendirilerek analiz edilmiştir.

Tablo 2: Test ve kontrol gruplarında klinik değişkenler (Başlangıç)

	TEST	KONTROL	p değeri
CD	6.67±0.75	6.60±0.73	0.8
PI	0.35±0.39	0.43±0.40	0.5
GI	1.47±0.52	1.51±0.52	0.8
DEÇ	0.77±0.67	0.91±0.85	0.5
KAS	7.43±1.17	7.51±1.24	0.8
SK	%63.33±22.89	%66.67±24.40	0.7

Tablo 3: Test ve kontrol gruplarında klinik değişkenler (3. ay)

	TEST	KONTROL	p değeri
CD	2.69±0.46	3.38±0.61	0.3
PI	0.20±0.19	0.23±0.20	0.6
GI	0.23±0.24	0.28±0.23	0.5
DEÇ	0.90±0.63	1.05±0.59	0.5
KAS	3.59±0.78	4.43±0.76	0.1
SK	%16.67±24.40	%16.67±24.40	1

Tablo 4: Test ve kontrol gruplarında klinik değişkenler (6.ay)

	TEST	KONTROL	p değeri
CD	2.58±0.78	2.98±0.70	0.3
PI	0.15±0.18	0.18±0.18	0.6
GI	0.22±0.23	0.25±0.23	0.7
DEÇ	0.70±0.61	0.93±0.42	0.2
KAS	3.28±0.84	3.91±0.86	0.1
SK	%10.00±20.70	%10.00±20.40	1

Tablo 5: Test grubunda klinik değişkenler

	BAŞLANGIÇ	3.AY	6.AY
CD	6.67±0.75	2.69±0.46*	2.58±0.78 ^s
PI	0.35±0.39	0.20±0.19	0.15±0.18
GI	1.47±0.52	0.23±0.24*	0.22±0.23 ^s
DEÇ	0.77±0.67	0.90±0.63	0.70±0.61 [†]
KAS	7.43±1.17	3.59±0.78*	3.28±0.84 ^s
SK	%63.33±22.89	%16.67±24.40*	%10.00±20.70 ^s

* p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark başlangıç ve 3. ay için önemli,

^s p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark başlangıç ve 6. ay için önemli,

[†] p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark 3 ve 6. ay için önemli

Tablo 6: Kontrol grubunda klinik değişkenler

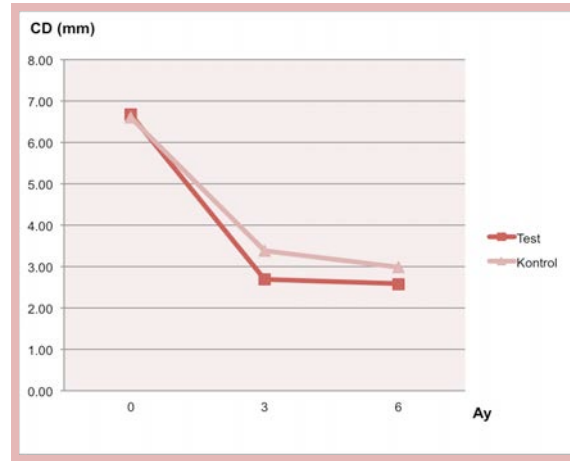
	BAŞLANGIÇ	3.AY	6.AY
CD	6.60±0.73	3.38±0.61*	2.98±0.70 ^s
PI	0.43±0.40	0.23±0.20	0.18±0.18 ^s
GI	1.51±0.52	0.28±0.23*	0.25±0.23 ^s
DEÇ	0.91±0.85	1.05±0.59	0.93±0.42
KAS	7.51±1.24	4.43±0.76*	3.91±0.86 ^s
SK	66.67±24.40	%16.67±24.40*	%10.00±20.40 ^s

* p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark başlangıç ve 3. ay için önemli,

^s p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark başlangıç ve 6. ay için önemli,

Cep derinliği (CD) değerleri test grubunda başlangıçta 6.67 ± 0.75 mm olarak kaydedilirken çalışma boyunca azalma kaydederek 3. ayda 2.69 ± 0.46 mm, 6 ayda 2.58 ± 0.78 mm olarak ölçülmüştür. CD'de 3. ve 6. ayda kaydededilen değerlerde başlangıç değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma olduğu bulunurken ($p < 0.05$), 3 ve 6. aylar kendi aralarında değerlendirildiğinde herhangi bir farkın olmadığı görülmüştür (Tablo 5). Başlangıçta kontrol grubunun değerleri 6.60 ± 0.73 mm iken, 3. ayda 3.38 ± 0.61 mm ve 6. ayda 2.98 ± 0.70 mm olarak kaydedilmiştir. Yapılan ölçümler ışığında 3. ay ve 6. ayda CD'de kaydedilen azalmanın başlangıç ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 6).

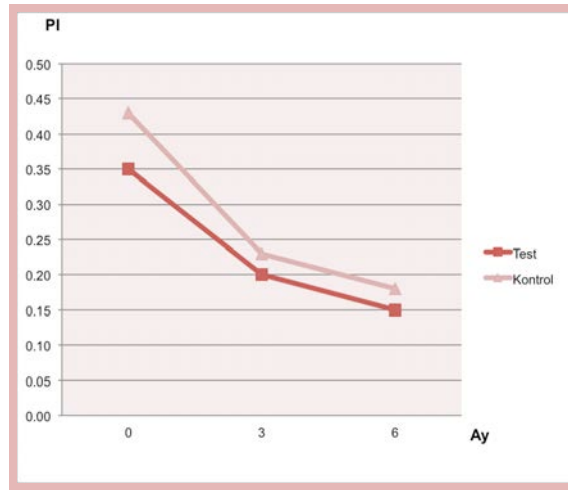
Kontrol ve test grupları için ölçülen CD değerlerinin zaman içinde değişiminin gruplar arası değerlendirmesinde hiç bir zaman diliminde anlamlı bir farklılığa rastlanmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 2, 3, 4).



Şekil 7: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama CD değerlerinin değişimi

Plak İndeksi (PI) değerleri test grubu için başlangıçta 0.35 ± 0.39 olarak ölçülürken 3. ayda 0.20 ± 0.19 , 6. ayda 0.15 ± 0.18 olarak

kaydedilmiştir. Çalışma dönemi boyunca PI değerlerinin düşme eğiliminde olduğu saptanmasına rağmen bu düşüşlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo 5). Kontrol grubunda ise başlangıçta 0.43 ± 0.40 iken, 3. ayda 0.23 ± 0.20 , 6. ayda 0.18 ± 0.18 şeklinde ölçülerek düşüş gözlemlendiği, bu düşüşün başlangıç ve 6. ay için anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 6).

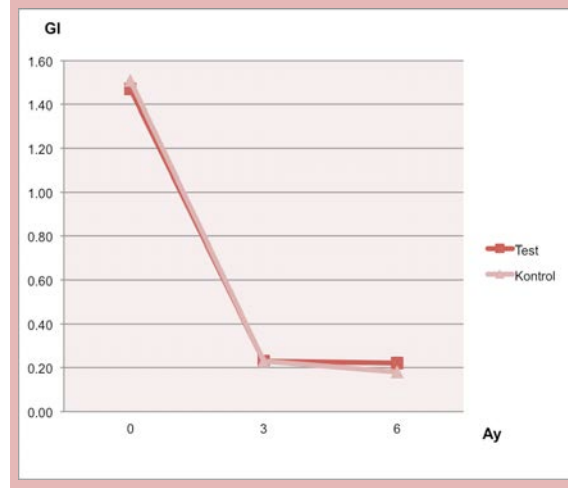


Şekil 8: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama PI değerlerinin değişimi

Gruplar arası değerlendirmede başlangıç, 3 ve 6. ayda kaydedilen PI ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı saptanmıştır ($p>0.05$) (Tablo 2, 3, 4).

Gingival indeks (GI) test grubu değerlendirmesinde başlangıçtaki 1.47 ± 0.52 değeri çalışma boyunca azalarak 3. ayda 0.23 ± 0.24 ve 6. ayda 0.22 ± 0.23 olarak ölçülmüştür. 3 ve 6. aydaki değerlendirmede elde edilen ölçümlerin başlangıç değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük olduğu bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 5). Kontrol grubunda ise başlangıçta 1.51 ± 0.52 , 3. ayda 0.28 ± 0.23 ve 6. ayda 0.25 ± 0.23 olarak kaydedilerek çalışma boyunca azalma olduğu

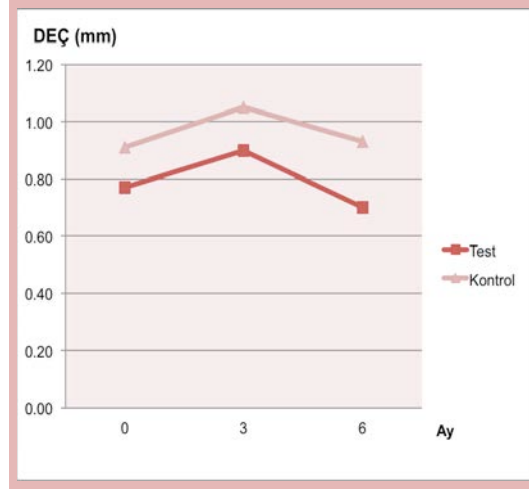
bulunmuştur. Bu azalmaların 3 ve 6 aylar için başlangıca göre anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0.05$) (Tablo 6).



Şekil 9: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama GI değerlerinin değişimi

Gruplar arası değerlendirmede ise GI için kaydedilen ölçümlerde başlangıç, 3 ve 6. aylarda test ve kontrol grupları için herhangi bir fark olmadığı ortaya çıkmıştır ($p>0.05$) (Tablo 2, 3, 4).

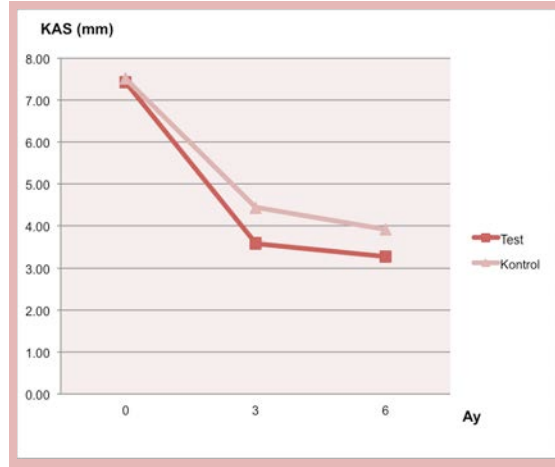
Diş eti çekilmesi (DEÇ) miktarı test grubunda analiz edildiğinde başlangıçta 0.77 ± 0.67 mm olan değerlerin 3. ayda 0.90 ± 0.63 mm değerine yükseldiği, 6. ayda tekrar düşerek 0.70 ± 0.61 mm'ye gerilediği, kaydedilen bu gerilemenin ise 6. ay için 3. aya göre anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 5). Kontrol grubunda ise başlangıçta 0.91 ± 0.85 mm olarak kaydedilmiş olup, 3. ayda artarak 1.05 ± 0.59 mm, 6. ayda ise azalarak 0.93 ± 0.42 mm olarak ölçülmüştür. Çalışma boyunca kaydedilen bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo 6).



Şekil 10: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama DEÇ değerlerinin değişimi

Gruplar arası değerlendirmede ise incelenen hiç bir takip dönemi için DEÇ miktarı açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo2, 3, 4).

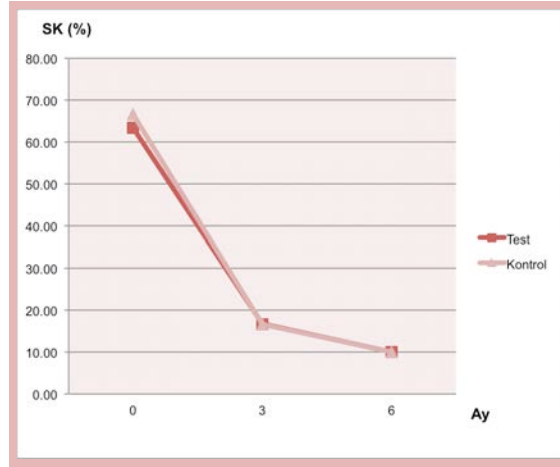
Klinik ataşman seviyesi (KAS) test grubunda değerlendirildiğinde başlangıçta 7.43 ± 1.17 mm olarak ölçülen değer 3. ayda 3.59 ± 0.78 mm'ye, 6. ayda ise 3.28 ± 0.84 mm'ye gerilediği belirlenmiştir. 3 ve 6. ayda kaydedilen değerlerin başlangıca göre anlamlı seviyede düştüğü tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 5). Kontrol grubu için başlangıçta 7.51 ± 1.24 mm, 3. ayda azalma kaydedilerek 4.43 ± 0.76 mm ve 6. ayda da azalmaya devam ederek 3.91 ± 0.86 mm olarak ölçülmüştür. Kaydedilen azalmaların 3 ve 6. ay için başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 6).



Şekil 11: Test ve Kontrol bölgelerindeki ortalama KAS değerlerinin değişimi

Gruplar arası değerlendirmede ise KAS için kaydedilen ölçümlerin başlangıç, 3 ve 6. aylarda test ve kontrol grupları için farklı olmadığı ortaya çıkmıştır ($p>0.05$) (Tablo 2, 3, 4).

Sondlamada kanama (SK) değerleri test grubunda başlangıçta 63.33 ± 22.89 , 3. ayda 16.67 ± 24.40 , 6. ayda 10.00 ± 20.70 olarak ölçülerek 3. ve 6. aydaki azalmaların başlangıçtaki değerlere göre anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 5). Kontrol grubunda 66.67 ± 24.40 iken 3. ayda 16.67 ± 24.40 ve 6. ayda 10.00 ± 20.40 olarak kaydedilmiştir. Buna göre SK'nın 3 ve 6. ayda başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede azaldığı tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 6).



Şekil 12: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama SK değerlerinin değişimi

SK'nın test ve kontrol grupları arasında yarattığı farkın değerlendirilmesinde ise takip dönemlerinde anlamlı bir değişimin olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$) (Tablo 2, 3 ,4).

4.2. İmmünolojik Bulgular

DOS hacmi başlangıçta test grubunda 0.33 ± 0.006 µl, 3. ayda 0.25 ± 0.004 ve 6. ayda 0.21 ± 0.006 olarak kaydedilerek takip dönemlerinde azalma meydana geldiği görülmüştür. Kaydedilen azalmanın 3 ve 6. ay için başlangıca göre, 6. ay için 3. aya göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 10).

Kontrol grubunda ise başlangıçta 0.34 ± 0.006 µl olan DOS hacmi 3. ayda ve 6. ayda azalarak sırasıyla 0.26 ± 0.005 ve 0.19 ± 0.004 olarak ölçülmüştür. Test grubunda olduğu gibi bu grupta da azalmanın 3 ve 6. ay için başlangıca göre ve 6. ay için de 3. aya göre anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0.05$) (Tablo 11).

Gruplar arası değerlendirmede takip dönemleri boyunca DOS hacmi açısından test ve kontrol grupları arasında istatistiksel bir farklılık bulunmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$) (Tablo 7, 8, 9).

Tablo 7: Test ve kontrol gruplarında immünolojik değişkenler (Başlangıç)

	TEST	KONTROL	p değeri
DOS Hacmi	0.33±0.006	0.34±0.006	0.9
OPG Total miktarı (pg)	6.35±5.24	7.03±4.24	0.6
OPG Konsantrasyon(pg/μl)	18.54±12.22	22.43±16.45	0.5
IL-1β Total miktarı (pg)	14.31±14.69	12.58±15.41	0.7
IL-1β Konsantrasyon(pg/μl)	42.80±40.93	37.27±41.30	0.7
IL-17 Total miktarı (pg)	2.68±4.56	2.20±3.75	0.7
IL-17 Konsantrasyon(pg/μl)	9.16±16.13	6.58±10.24	0.6

Tablo 8: Test ve kontrol gruplarında immünolojik değişkenler (3. Ay)

	TEST	KONTROL	p değeri
DOS Hacmi	0.25±0.004	0.26±0.005	0.6
OPG Total miktarı (pg)	12.65±11.63	13.53±9.20	0.8
OPG Konsantrasyon(pg/μl)	48.08±39.55	54.10±42.45	0.7
IL-1β Total miktarı (pg)	10.78±8.74	9.40±7.85	0.8
IL-1β Konsantrasyon(pg/μl)	43.62±34.75	36.57±29.85	0.7
IL-17 Total miktarı (pg)	1.60±2.28	1.36±1.85	0.7
IL-17 Konsantrasyon(pg/μl)	6.41±8.80	5.75±8.50	0.8

Tablo 9: Test ve kontrol gruplarında immünolojik değişkenler (6. ay)

	TEST	KONTROL	p değeri
DOS Hacmi	0.21±0.006	0.19±0.004	0.2
OPG Total miktarı (pg)	14.30±9.95	11.13±9.35	0.3
OPG Konsantrasyon(pg/μl)	74.95±70.74	61.50±47.24	0.5
IL-1β Total miktarı (pg)	9.43±4.92	9.64±4.27	0.9
IL-1β Konsantrasyon(pg/μl)	46.70±20.90	49.33±22.99	0.7
IL-17 Total miktarı (pg)	1.45±2.14	1.36±1.92	0.9
IL-17 Konsantrasyon(pg/μl)	6.64±9.57	8.89±14.55	0.6

Tablo 10: Test grubunda immünolojik değişkenler

	BAŞLANGIÇ	3.AY	6.AY
DOS Hacmi	0.33±0.006	0.25±0.004*	0.21±0.006 ^{§†}
OPG Total miktarı (pg)	6.35±5.24	12.65±11.63*	14.30±9.95 [§]
OPG Konsantrasyon(pg/μl)	18.54±12.22	48.08±39.55*	74.95±70.74 ^{§†}
IL-1β Total miktarı (pg)	14.31±14.69	10.78±8.74	9.43±4.92
IL-1β Konsantrasyon(pg/μl)	42.80±40.93	43.62±34.75	46.70±20.90
IL-17 Total miktarı (pg)	2.68±4.56	1.60±2.28*	1.45±2.14 [§]
IL-17 Konsantrasyon(pg/μl)	9.16±16.13	6.41±8.80	6.64±9.57

* p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark başlangıç ve 3. ay için önemli,

[§] p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark başlangıç ve 6. ay için önemli,

[†] p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark 3 ve 6. ay için önemli

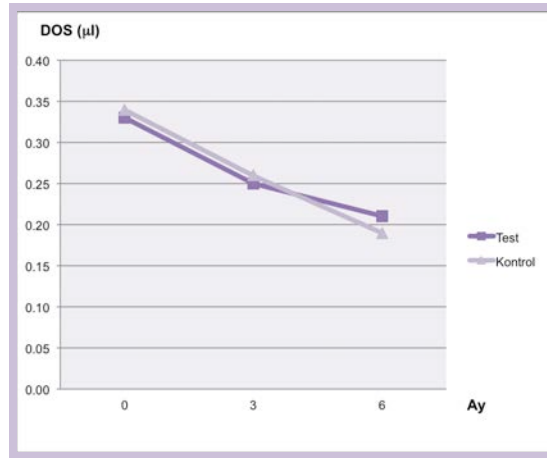
Tablo 11: Kontrol grubunda immünolojik değişkenler

	BAŞLANGIÇ	3.AY	6.AY
DOS Hacmi	0.34±0.006	0.26±0.005*	0.19±0.004 ^{§†}
OPG Total miktarı (pg)	7.03±4.24	13.53±9.20*	11.13±9.35 [§]
OPG Konsantrasyon(pg/μl)	22.43±16.45	54.10±42.45*	61.50±47.24 [§]
IL-1β Total miktarı (pg)	12.58±15.41	9.40±7.85	9.64±4.27
IL-1β Konsantrasyon(pg/μl)	37.27±41.30	36.57±29.85	49.33±22.99
IL-17 Total miktarı (pg)	2.20±3.75	1.36±1.85*	1.36±1.92 [§]
IL-17 Konsantrasyon(pg/μl)	6.58±10.24	5.75±8.50	8.89±14.55

* p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark başlangıç ve 3. ay için önemli,

[§] p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark başlangıç ve 6. ay için önemli,

[†] p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark 3 ve 6. ay için önemli

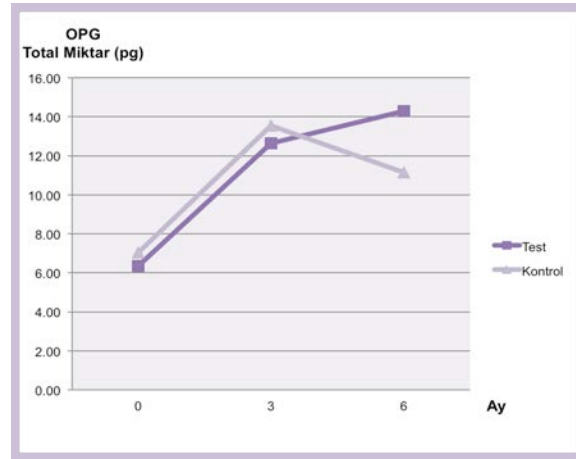


Şekil 13: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama DOS değerlerinin değişimi

Test grubunda OPG total miktarı açısından takip dönemi boyunca anlamlı farklılık başlangıç (6.35±5.24 pg) ile 3. ay (12.65±11.63 pg) ve 6. ayda (14.30±9.95) gözlenmiştir (p<0.05) (Tablo 10).

OPG total miktarı değerlendirmesinde kontrol grubunda da test grubu ile benzer şekilde başlangış (7.03 ± 4.24 pg) ile 3. ay (13.53 ± 9.20 pg) ve 6. ay (11.13 ± 9.35 pg) arasında anlamlı bir farklılık olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 11).

Gruplar arası değerlendirme yapıldığında ise incelenen takip dönemlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 7, 8, 9).

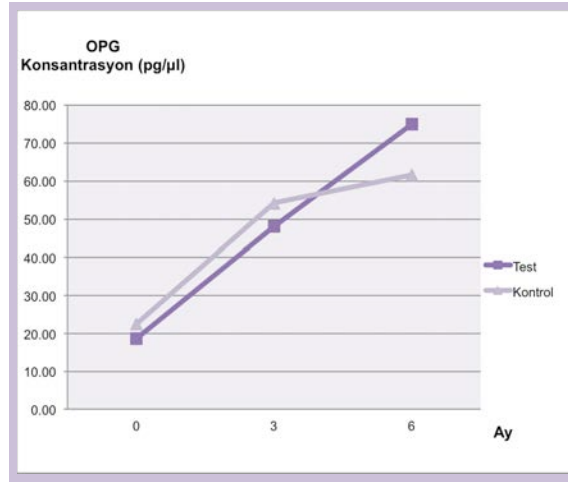


şekil 14: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama OPG total miktarlarının değişimi

OPG konsantrasyonu test grubunda takip dönemi boyunca artmaya devam ederek başlangışta 18.54 ± 12.22 pg/ μ l, 3. ayda 48.08 ± 39.55 pg/ μ l ve 6. ayda 74.95 ± 70.74 pg/ μ l olarak llmştş. 3 ve 6. ayda kaydedilen değerler başlangışla, 6. ay değerleri ise 3. ayla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$) (Tablo 10).

OPG konsantrasyonu kontrol grubunda da takip dönemi süresince artış kaydederek başlangıçta 22.43 ± 16.45 pg/ μ l, 3. ayda 54.10 ± 42.45 pg/ μ l ve 6. ayda 61.50 ± 47.24 pg/ μ l olarak ölçülmüştür. Kaydedilen ölçümlerin istatistiksel olarak farklılığı değerlendirildiğinde 3. ve 6. ay değerlerinin başlangıca göre farklı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 11).

OPG konsantrasyonun takip dönemleri boyunca gruplar arası farkı incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$) (Tablo 7, 8, 9).

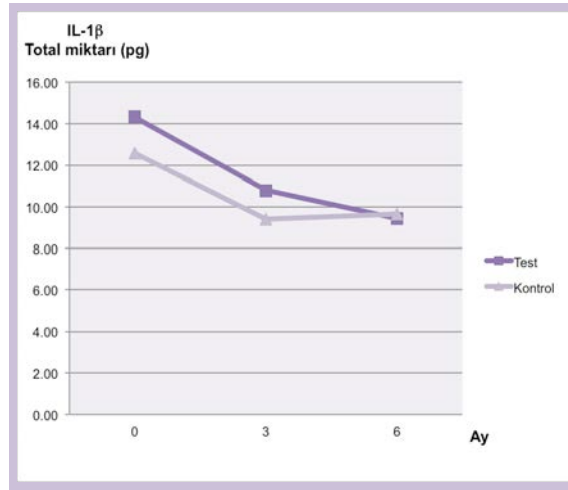


Şekil 15: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama OPG konsantrasyonlarının değişimi

IL-1 β total miktarı test grubunda başlangıçta 14.31 ± 14.69 pg, 3. Ayda 10.78 ± 8.74 pg ve 6. ayda 9.43 ± 4.92 pg olarak ölçülmüştür. IL-1 β total miktarında takip dönemleri boyunca gözlenen azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p > 0.05$) (Tablo 10).

Kontrol grubunun IL-1 β total miktarında da başlangıca (12.58 $\pm$ 15.41 pg) göre 3. ayda (9.40 $\pm$ 7.85 pg) ve 6. ayda (9.64 $\pm$ 4.27 pg) azalmalar saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (p>0.05) (Tablo 11).

IL-1 β total miktarının gruplar arası değerlendirmesinde takip dönemleri boyunca test ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir (p>0.05) (Tablo 7, 8, 9)

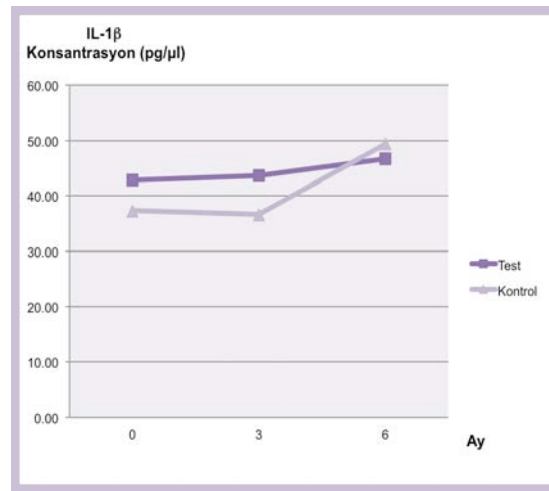


Şekil 16: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama IL-1 β total miktarlarının değişimi

IL-1 β konsantrasyonunun test grubundaki ölçümlerinde başlangıçta 42.80 $\pm$ 40.93 pg/ μ l olan değerlerin 3. ayda 43.62 $\pm$ 34.75 pg/ μ l'ye, 6. ayda 46.70 $\pm$ 20.90 pg/ μ l seviyesine ulaştığı saptanmıştır. Konsantrasyon değerlerindeki bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir (p>0.05) (Tablo 10).

IL-1 β konsantrasyonu kontrol grubunda başlangıçta 37.27 $\pm$ 41.30 pg/ μ l iken 3. ayda düşerek 36.57 $\pm$ 29.85 pg/ μ l, 6 ayda yükselerek 49.33 $\pm$ 22.99 pg/ μ l olarak ölçülmüştür. IL-1 β konsantrasyon seviyesindeki bu değişimlerin istatistiksel olarak bir farklılık yaratmadığı saptanmıştır (p>0.05) (Tablo 11).

IL-1 β konsantrasyon seviyesinin takip dönemi boyunca test ve kontrol grupları arası değerlendirmesinde de istatistiksel bir fark bulunmadığı belirlenmiştir (p>0.05) (Tablo 7, 8, 9).

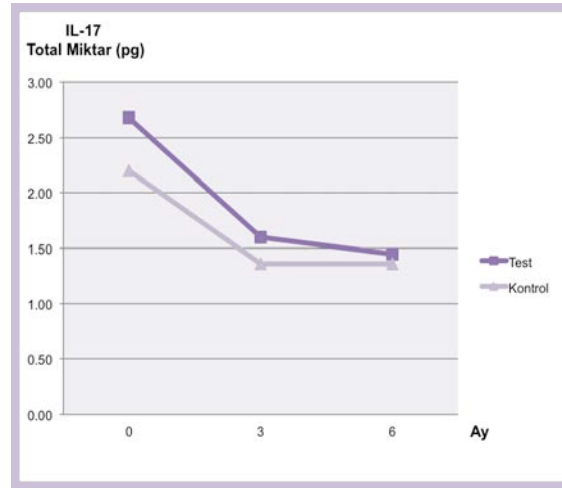


Şekil 17: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama IL-1 β konsantrasyonlarının değişimi

IL-17 total miktarı test grubu için takip dönemi boyunca değerlendirildiğinde, başlangıçta 2.68 $\pm$ 4.56 pg olan IL-17 seviyesi düşerek 3. ayda 1.60 $\pm$ 2.28 pg, 6. ayda 1.45 $\pm$ 2.14 pg olarak ölçülmüştür. IL-17 seviyesindeki 3. ve 6. ayda belirlenen düşüşlerin başlangıça göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p<0.05) (Tablo 10).

IL-17 total miktarının kontrol grubunun başlangıç seviyeleri 2.20 ± 3.75 pg iken 3. ayda 1.36 ± 1.85 pg, 6. ayda 1.36 ± 1.92 pg olarak ölçülmüştür. 3. ve 6. ayda kaydedilen IL-17 seviyesindeki azalmaların başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$) (Tablo 11).

IL-17 total miktarının takip dönemi boyunca test ve kontrol grupları arası değerlendirmesi yapıldığında istatistiksel bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir ($p > 0.05$) (Tablo 7, 8, 9).

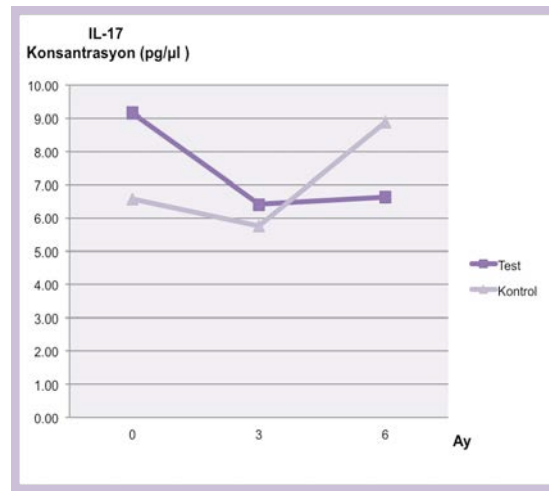


Şekil 18: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama IL-17 total miktarlarının değişimi

IL-17 konsantrasyonu test grubu için başlangıçta 9.16 ± 16.13 pg/ μ l, 3. ayda 6.41 ± 8.80 pg/ μ l ve 6. ayda 6.64 ± 9.57 pg/ μ l olarak ölçülmüştür. Kaydedilen seviyelerdeki takip dönemi boyunca gözlenen değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p > 0.05$) (Tablo 10).

Kontrol grubu için IL-17 konsantrasyon seviyeleri değerlendirildiğinde 6.58 ± 10.24 pg/ μ l olan başlangıç seviyesi 3. ayda 5.75 ± 8.50 pg/ μ l ve 6. ayda 8.89 ± 14.55 pg/ μ l olarak kaydedilmiştir. Takip dönemi boyunca kaydedilen bu değerler arasında anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur ($p > 0.05$) (Tablo 11).

IL-17 konsantrasyonunun takip dönemi boyunca test ve kontrol grupları arası değerlendirmesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir ($p > 0.05$) (Tablo 7, 8 ,9).



Şekil 19: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama IL-17 konsantrasyonlarının değişimi

4.3. Radyolojik Bulgular

Test grubunda MSS-DT arası mesafenin takip dönemi boyunca değişimi incelendiğinde başlangıçta 7.59 ± 0.98 mm olan değerlerin 3. ayda 4.47 ± 0.99 mm ve 3.69 ± 1.18 mm seviyelerine gerilediği belirlenmiştir. 3. ayda ve 6. ayda kaydedilen değerlerin başlangıç

değerlerine göre ve 6. ay seviyelerinin de 3. aya göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0.05$) (Tablo 15).

MSS-DT arası mesafenin kontrol grubu verilerinde 7.19 ± 0.64 mm olan başlangıç seviyelerinin 3. ayda 4.49 ± 0.78 mm' ye, 6. ayda ise 3.81 ± 1.10 mm' ye gerilediği belirlenmiştir. MSS-DT arası mesafenin 3. ve 6. ayda başlangıç seviyelerine göre ve 6. ayda 3. aya göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük olduğu saptanmıştır ($p<0.05$) (Tablo 16).

MSS-DT mesafesinin gruplar arası değerlendirmesinde başlangıç ve 3 ve 6. ayda test ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$) (Tablo 12, 13, 14).

Tablo 12: Test ve kontrol gruplarında radyografik değişkenler (Başlangıç)

	TEST	KONTROL	p değeri
MSS-DT (mm)	7.59 ± 0.98	7.19 ± 0.64	0.2
AK-DT (mm)	2.88 ± 0.88	2.83 ± 0.98	0.8
Defekt açısı (°)	39.82 ± 5.51	42.42 ± 8.22	0.3

Tablo 13: Test ve kontrol gruplarında radyografik değişkenler (3. ay)

	TEST	KONTROL	p değeri
MSS-DT (mm)	4.47 ± 0.99	4.49 ± 0.78	0.8
AK-DT (mm)	1.86 ± 0.64	1.95 ± 0.79	0.7
Defekt açısı (°)	51.26 ± 7.82	54.60 ± 10.46	0.3

Tablo 14: Test ve kontrol gruplarında radyografik değişkenler (6. ay)

	TEST	KONTROL	p değeri
MSS-DT (mm)	3.69±1.18	3.81±1.10	0.2
AK-DT (mm)	1.69±0.63	1.70±0.64	0.9
Defekt açısı (°)	53.33±8.19	56.86±9.94	0.2

Tablo15: Test grubu radyografik değişkenler

	BAŞLANGIÇ	3.AY	6.AY
MSS-DT (mm)	7.59±0.98	4.47±0.99*	3.69±1.18 st
AK-DT (mm)	2.88±0.88	1.86±0.64*	1.69±0.63 st
Defekt açısı (°)	39.82±5.51	51.26±7.82*	53.33±8.19 ^s

* p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark başlangıç ve 3. ay için önemli,

^s p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark başlangıç ve 6. ay için önemli,

^t p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark 3 ve 6. ay için önemli

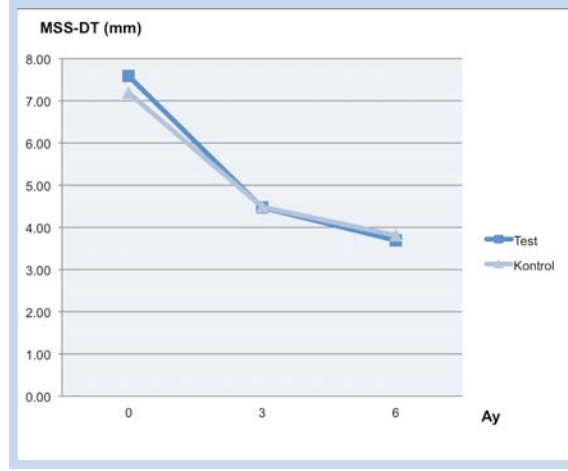
Tablo 16: Kontrol grubu radyografik değişkenler

	BAŞLANGIÇ	3.AY	6.AY
MSS-DT (mm)	7.19±0.64	4.49±0.78*	3.81±1.10 st
AK-DT (mm)	2.83±0.98	1.95±0.79*	1.70±0.64 st
Defekt açısı (°)	42.42±8.22	54.60±10.46*	56.86±9.94 ^s

* p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark başlangıç ve 3. ay için önemli,

^s p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark başlangıç ve 6. ay için önemli,

^t p<0.05 anlamlılık düzeyinde fark 3 ve 6. ay için önemli

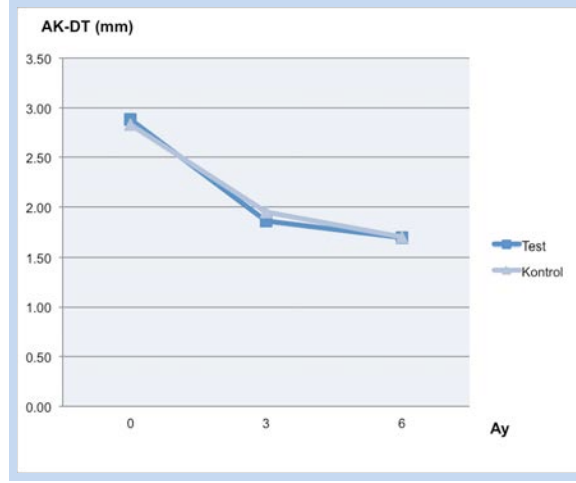


Şekil 20: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama MSS-DT değerlerinin değişimi

AK-DT arası mesafe test grubunda başlangıçta 2.88 ± 0.88 mm iken 3. ayda 1.86 ± 0.64 mm ve 6. ayda 1.69 ± 0.63 mm olarak ölçülüp, takip dönemi boyunca kaydedilen değerlerin 3. ve 6. ay için başlangıca göre ve 6. ay için 3. aya göre istatistiksel olarak anlamlı oranda farklı olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$) (Tablo 15).

Kontrol grubunda AK-DT arası mesafe değerlendirmesinde de test grubuna benzer şekilde 3. (1.95 ± 0.79 mm) ve 6. ay (1.70 ± 0.64 mm) değerlerinin başlangıca (2.83 ± 0.98 mm) göre ve 6. ay değerlerinin 3. aya göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$) (Tablo 16).

AK-DT arası mesafenin takip dönemi boyunca test ve kontrol grupları arası değerlendirmesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir ($p > 0.05$) (Tablo 12, 13, 14).

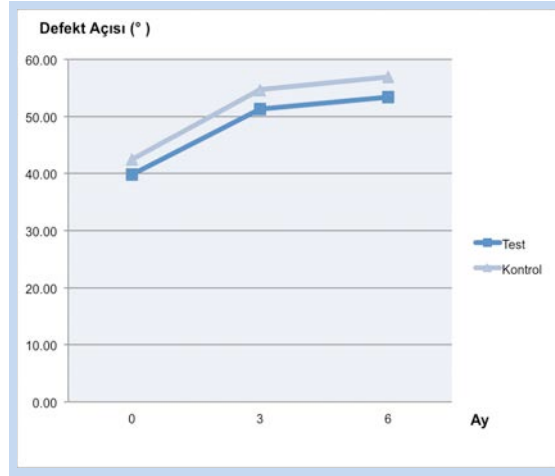


Şekil 21: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama AK-DT değerlerinin değişimi

Test grubunda defekt açısı başlangıçta $39.82 \pm 5.51^\circ$ iken 3. ayda $51.26 \pm 7.82^\circ$ ve 6. ayda $53.33 \pm 8.19^\circ$ olarak ölçülüp, takip dönemi boyunca kaydedilen değerlerin 3. ve 6. ay için başlangıca göre istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$) (Tablo 15).

Defekt açısı kontrol grubunda değerlendirmesinde 3. ($54.60 \pm 10.46^\circ$) ve 6. ay ($56.86 \pm 9.94^\circ$) değerlerinin başlangıca ($42.42 \pm 8.22^\circ$) göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$) (Tablo 16).

Defekt açısının test ve kontrol gruplarının takip dönemi boyunca gruplar arası değerlendirmesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir ($p > 0.05$) (Tablo 12, 13, 14).



Şekil 22: Test ve kontrol bölgelerindeki ortalama defekt açısı değerlerinin değişimi

4.4. Klinik, radyografik ve immünolojik ölçümler arasındaki ilişki miktarları (korelasyonlar)

Başlangıçta elde edilen klinik, radyografik ve immünolojik verilerin birbirleri ile korelasyonu incelendiğinde tüm gruplarda CD ile KAS ($p<0.01$) ve MSS-DT ($p<0.05$) arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. Her iki grupta IL-1 β , OPG ve IL-17 konsantrasyonları ile total miktarlarının korele olduğu belirlenmiştir ($p<0.01$). Test grubunda PI ile MSS-DT ($p<0.05$) ve OPG konsantrasyonu ile GI ($p<0.05$) arasında pozitif korelasyon saptanırken, IL-1 β konsantrasyonu ve total miktarı ile DA arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir ($p<0.05$). Kontrol grubunda da IL-1 β konsantrasyonu ile PI arasında ($p<0.05$), IL-1 β total miktarı ile PI arasında ($p<0.01$) ve IL-17 konsantrasyonu ile CD arasında ($p<0.05$) pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur (Tablo 17).

Tablo 17: Test (T) ve Kontrol (K) Gruplarında Klinik, Radyografik ve İmmünolojik Değişkenler Arasındaki İlişki Miktarları (Başlangıç)

	PI	KAS	MSS-DT	OPG Tot.	IL-1 β Tot.	IL-17 Kons.	DA	GI
PI			T* 0.530		K** 0.694			
OPG Kons.				T** 0.968 K** 0.902				T* 0.521
IL-1 β Kons.	K* 0.637				T** 0.993 K** 0.993		T* -0.517	
CD		T** 0.845 K** 0.744	T* 0.599 K* 0.530			K* 0.570		
IL-17 Tot.						T** 0.997 K** 0.988		
DA					T* -0.528			

* p<0.05 anlamlılık düzeyinde ilişki önemli

** p<0.01 anlamlılık düzeyinde ilişki önemli

3. ayda elde edilen veriler değerlendirildiğinde ise ; her iki grupta da IL-1 β , IL-17 ve OPG konsantrasyon ile total miktarları arasında korelasyon olduğu belirlenmiştir (p<0.01). Yine her iki grupta CD ile KAS ve MSS-DT, GI ile DA arasında pozitif korelasyon (p<0.01), OPG konsantrasyonu ile DOS hacmi arasında negatif korelasyon olduğu saptanmıştır (p<0.05). Test grubunda DA ile IL-17 konsantrasyonu (p<0.01) ve total miktarı (p<0.05) arasında pozitif, OPG konsantrasyonu ile PI arasında negatif korelasyon olduğu tespit edilirken (p<0.05), kontrol

grubunda PI ile CD arasında pozitif , PI ile OPG total miktarı arasında negatif korelasyon olduğu tespit edilmiştir (p<0.05) (Tablo 18).

Tablo 18: Test (T) ve Kontrol (K) Gruplarında Klinik, Radyografik ve İmmünolojik Değişkenler Arasındaki İlişki Miktarları (3. Ay)

	PI	KAS	MSS-DT	OPG Tot.	IL-1 β Tot.	IL-17 Kons.	DA	DOS
GI							T** 0.658 K** 0.693	
PI				K* -0.599				
OPG Kons.	T* -0.585			T** 0.979 K** 0.902				T* -0.578 K* -0.563
IL-1 β Kons.					T** 0.979 K** 0.982			
CD	K* 0.568	T** 0.679 K** 0.646	T** 0.745 K** 0.693					
IL-17 Tot.						T** 0.985 K** 0.970	T* 0.632	
DA						T** 0.647		

* p<0.05 anlamlılık düzeyinde ilişki önemli

** p<0.01 anlamlılık düzeyinde ilişki önemli

Test ve kontrol grupları 6. ay verilerinin korelasyon analizinde IL-1 β , IL-17 ve OPG konsantrasyon ile total miktarları arasında , CD ile KAS ve MSS-DT arasında (p<0.01) ve KAS ile MSS-DT arasında

korelasyon olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Test grubunda DA ile IL-17 konsantrasyon ve total miktarı ($p<0.05$), CD ile IL-1 β total miktarı ve GI ile PI arasında korelasyon olduğu belirlenmiştir ($p<0.01$). Kontrol grubunda ise IL-1 β konsantrasyonu ile CD ($p<0.01$), KAS ve MSS-DT arasında korelasyon saptanmıştır ($p<0.05$) (Tablo 19).

Tablo 19: Test (T) ve Kontrol (K) Gruplarında Klinik, Radyografik ve İmmünolojik Değişkenler Arasındaki İlişki Miktarları (6. Ay)

	CD	PI	KAS	MSS-DT	OPG Tot.	IL-1 β Tot.	IL-17 Kons.	DA
GI		T** 0.657						
CD						T** 0.722		
OPG Kons.					T** 0.956 K** 0.940			
IL-1 β Kons.	K** 0.731		K* 0.550	K* 0.579		T** 0.876 K** 0.744		
CD			T** 0.715 K** 0.871	T** 0.838 K** 0.749				
IL-17 Tot.						T** 0.995 K** 0.949	T* 0.606	
DA							T* 0.580	
KAS				T* 0.581 K* 0.593				

* p<0.05 anlamlılık düzeyinde ilişki önemli

** p<0.01 anlamlılık düzeyinde ilişki önemli

5. TARTIŞMA

Dünyada birçok insanı etkileyen ve endemik hastalık olarak kabul edilen gingivitis, dişi çevreleyen yumuşak dokuların iltihabını ifade etmekte iken diş kaybının temel nedenlerinden olan periodontitiste alveoler kemik ve periodontal ligamentin yıkımı söz konusudur.²⁹⁷

Diş kayıplarının engellenmesi ve hastalıktan etkilenmiş destek periodontal dokuların sağlıklı duruma getirilebilmesi için mikrobiyal etiyolojiyi ve periodontitise neden olan risk faktörlerini kontrol altına almak periodontal tedavinin temel amacını oluşturmaktadır.^{1,4,5}

Periodontitis sonucu meydana gelen kemik içi defektler, en yüksek prevalansta gözlenen kemik yıkım şekillerinden olması^{158,166,167} ve tedavisinde günümüze kadar çok çeşitli yöntemler ve materyaller kullanılması^{8,181,298} nedeniyle çalışmamızda tercih edilmiştir.

TZP kullanımındaki temel amaç, plateletlerdeki büyüme faktörlerinin miktarının yara bölgesinde arttırılarak iyileşmenin hızlandırılmasıdır.²⁹⁹ Son yıllarda ortopedik cerrahi³⁰⁰, dermatoloji²⁸⁸ ve diş hekimliği^{17,18,244,301} gibi pek çok alanda TZP kullanılmaya başlanılmıştır. Periodontolojide kemik defektlerinin tedavisinde de son yıllarda yapılan çalışmalarda, TZP kullanımı gündeme gelmiştir.

Çalışmamızda, insan kemik içi periodontal defektlerinde sığır kaynaklı kemik greftini TZP ile beraber (test) ve tek başına (kontrol) uygulayarak, 3 ve 6 aylık iyileşme dönemi sonrasında TZP'nin etkinliğinin

klirik, radyografik ve immünolojik olarak değeriendirilmesi amaçlanmıştır.

Araştırmamızda yer alan hastalar Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Kliniğimize tedavi amacıyla başvuran hastalar arasından seçilmiştir. Hastalardan alınan anamnezler ve yapılan muayeneler sonucunda çalışma kriterlerine uygun olduğu tespit edilen, kronik periodontitis teşhisi konulmuş, 7'si kadın, 8'i erkek olmak üzere toplam 15 hasta ve bu hastalarda bulunan, kriterlerimize uygun 30 defekt bölgesi esas alınarak çalışmaya dahil edilmiştir. Mevcut çalışmamızda defekt bölgesi sayılarını esas alan yaklaşımın, literatürdeki benzer çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür.^{5,302,303}

Çalışmamıza dahil olan bireyler, Uluslararası Periodontoloji Topluluğu'nun 1999 yılına ait yeni sınıflandırmasına göre "kronik periodontitis" teşhisi konulmuş hastalar arasından seçilmiş; aynı sınıflandırmaya göre "agresif periodontitis" ve "sistemik hastalıklara bağlı periodontitis" tanımlarına uyan hastalar periodontal tedaviye verdikleri cevabın farklı olmasından dolayı araştırma dışı bırakılmışlardır.^{28,304}

Günümüze kadar yapılan çalışmaların sonuçları, sigara kullanımının hem periodontal hastalıkların etiyolojisinde ve patogeneğinde, hem de periodontal tedavilerin sonuçları üzerinde etkili olduklarından araştırmamıza dahil edilecek bireylerin sigara kullanmıyor olmalarına özellikle dikkat edilmiştir.³⁰⁵⁻³⁰⁸

Çalışmamızda, faz-1 tedavisi bitiminden sonra literatürlerde yer aldığı şekliyle 4 hafta beklenmiş ve operasyon endikasyonuna, çalışma kriterlerine göre yeniden değerlendirilerek karar verilmiştir.³⁰⁹⁻³¹¹

Bireysel farklılıklardan kaynaklanabilecek, iyileşmeyi ve çalışma sonuçlarını etkileyebilecek faktörlerin gruplar üzerine olan etkilerinin eşitlenebilmesi amacıyla, literatürde yer aldığı gibi, çalışmamızda da, test ve kontrol grubunu oluşturan simetrik kemik içi defektlerin aynı bireylerde bulunmasına dikkat edilmiştir.^{17,244,312}

Periodontal hastalarda yapılan risk değerlendirmelerinin sonucunda, periodontal başlangıç tedavisi sonrasında 6 mm ve üzerinde cep derinlikleri bulunan bölgelerin varlığının, meydana gelebilecek periodontal hastalığın ciddiyetinin artmış ve ilerleme potansiyelinin yüksek olduğuna işaret ettiği bildirilmiştir.^{313,314} Bu sebeple, periodontal tedavinin önemli hedeflerinden birisi de, tedavi sonrası yeniden periodontal hastalığın oluşumunu engelleyebilmek için, tedavi sonrası cep derinliklerinin eliminasyonu olmuştur. Bu amaçla çoğu araştırmacı tarafından, orta derecede yıkımın görüldüğü periodontitis vakalarında cerrahi olmayan tedaviler yeterli olurken, özellikle kemik içi ceplerin ve furkasyon tutulumlarının görüldüğü ileri derecede yıkımlarla karakterize periodontitislerde faz-1 tedavinin periodontal cerrahi ile desteklenmesi gerektiği savunulmuştur.^{7,156} Çalışmamızda bu sebeple 6 mm ve üzerinde sondlanabilen cep derinliklerine sahip interproksimal kemik içi defekt bölgeleri seçilmiştir.

Literatürde, defekt morfolojisinde kemik içi komponent derinliğinin, defekt rejenerasyon potansiyelini etkileyen faktörlerden birisi olduğunu vurgulayan ve 3 mm üzerindeki defektlerin daha iyi iyileşme potansiyeline sahip olduklarını iddia eden araştırmalara istinaden çalışmamızda, tedavi edilen tüm kemik içi defektlerin 3 duvarlı olmalarının yanı sıra, 3-3.5 mm'lik kemik içi komponente sahip olup olmadıkları, operasyon sırasında açık ölçüm ve gözlemlerle kontrol edilmiştir.^{313,315,316}

Kemik içi defektlerin morfolojisinin iyileşme potansiyeli üzerinde doğrudan etkileri olduğu ve defekt çevresindeki kemik duvarlarının sayısı ile iyileşme arasında pozitif korelasyon olduğu ileri sürülmüştür.^{171,315,317,318} Kemik içi defektlerde, kemik duvarlarının defekte kavite özelliğini kazandırması ile birlikte defekt içerisine göç eden ve bu alanda iyileşmeyi sağlayan kemik hücrelerinin kaynağının artırıldığı bildirilmiştir.^{315,318,319} Duvar sayısı fazla olan kemik içi defektlerde, greft materyalinin kemik ve periodontal ligamente ait damar ve bağ doku elemanları ile daha fazla etkileşimde olduğu iddia edilmiştir.³¹⁹ Bu bilgiler ışığında 2 ve 3 duvarlı kemik içi defektler ile sınıf 2 furkasyon defektleri rejeneratif ve rekonstrüktif periodontal tedaviler için en uygun morfolojiye sahip defektler olarak literatüre geçmişlerdir.^{5,319}

Otojen greftler, osteoindüktif özellikte olup ikinci bir yara bölgesine ihtiyaç duyulmasından^{194,209} allogreftlerin ise hastalık transferi ve immunolojik reaksiyon riski taşımaları nedeniyle çalışmamızda kemik grefti olarak azda olsa osteoindüktif potansiyelleri olan ve sterilizasyon ve deproteinizasyon işlemleri ile oldukça geniş kullanım alanı bulan sığır kaynaklı kemik grefti seçilmiştir.^{5,12,17,19}

Kemik grefti morfolojilerinin, greftlerin osteokondüktif kapasiteleri üzerinde etkili olduğu, greft partikül boyutları ve şekillerinin, greftin rezorpsiyonu ve kemik ile yer değiştirmesi, greft partikülleri arasındaki boşlukların da, damar kaynaklı hücresel elemanların infiltrasyonu ve kemik formasyonu üzerine etkili oldukları bildirilmiştir.¹⁹³ Özellikle periodontal kemik içi defektlerin tedavisindeki greft uygulamalarında, yeterli partiküller arası boşluğun sağlanabilmesi için, çok yoğun kemik kondansasyonundan da kaçınılması gerektiği vurgulanmıştır.³²⁰

Günümüze kadar kemik greftleri için en uygun partikül boyutları pek çok araştırmacı tarafından incelenmiştir.^{193,320,321} Genel kanı, daha hızlı rezorpsiyon, daha geniş yüzey ve daha iyi osteogenezis açısından küçük partikül boyutlarının tercih edilmesi gerektiği yönünde olmuştur.^{320,322} Ancak uygulanacak kemik greftinin partikülleri çok küçük olursa da hücrelerin, damar ve kemiğin migrasyonu ve greft içine ilerlemesi için yeterli partikül arası boşluğun yaratılamayacağı ve partiküllerin uygun genişlikte porlara sahip olamayacağı ileri sürülmüştür.³²⁰

Sağlıklı kemiğin trabekül boyutlarının 20 - 100 µm arasında değiştiği ve trabekül boyutları 100 µm'a ulaştığında, osteonların Havers kanallarını taşıması gibi trabeküllerin de kendi kan damarlarını taşımaya başladıkları bildirilmiştir.¹⁹³ Otörler, kompakt kemiğin 50 - 250 µm arasında Havers sistemi ya da osteonları olduğu, bu yüzden de trabeküler kemik gelişiminin desteklenmesi için greft yapısındaki porların 40 - 100 µm arasında olmasının gerekli olduğu savunulmuştur.¹⁹³ Bio-Oss kemik greft materyallerinde, porlar arasında bağlantı olması ve ağ şeklinde bir yapının olması anjiyogenezi ve osteoblastların migrasyonunu kolaylaştırdığı

düşünülmektedir.²¹³ Bio-Oss'un yapısı, yeni kemik oluşumu için yardımcı iskelet görevi görmektedir. Böylece, osteoblastlar Bio-Oss ağı üzerinde bir tabaka oluşturmakta ve osteoid oluşarak sonunda sekonder kemik Bio-Oss trabekülünü çevreleyerek iskelet yapının kalınlaşmasını sağlamaktadır.^{210,214}

Bio-Oss, partikül büyüklüğü 0.25-1 mm, 1-2 mm olan spongios granüller halinde; 0.5-1 mm kortikal granüller halinde ve 100 mg spongios granül - %10 collagen kombinasyonu blok olarak kullanıma sunulmuştur.

TZP'nin tek başına uygulamasında post operatif komplikasyonları azalttığı ve kemik dolumunu arttırdığı saptanan deneysel ve klinik çalışmalarla radyolojik olarak kanıtlandığı gibi^{16,323}, kısa ve uzun dönemde TZP'nin kemik dolumuna herhangi bir katkısının olmadığını bildiren çalışmalar da literatürde yer almaktadır.^{275,324}

TZP uygulaması tek başına yapıldığı gibi otojen kemik^{325,326} ve kemik iliği²⁴³, demineralize sıgır kaynaklı kemik grefti gibi ksenogreftler^{17,19} ve β -TCP^{13,14} gibi alloplastik greftlerle kombine kullanılmıştır. Allogreftlerin, çeşitli oranlarda kemik morfogenetik protein içerikleriyle sadece osteokondüktif değil bazı osteoindüktif etkilerinin de olabileceği iddia edilmiştir.^{5,12}

TZP otojen kemik ile uygulandığında kemikte rejeneratif potansiyeli birkaç istisnai çalışma dışında^{16,243} arttırmada etkili olmadığı

belirlenmiştir.^{275,290,327} Allogreftlerle uygulamasında beklenen stimülatif etkinin gözlenmemesi üzerine greftte canlı hücre varlığının gerekliliği vurgulanmıştır.¹⁹ Otojen greft ile birlikte uygulanan TZP'nin istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ve farklı greft materyalleri ile olan etkileşim ve katkılarının daha iyi anlaşılabilmesi ve analiz edilebilmesi için ileriki çalışmalara gereksinim olduğu belirtilmiştir.^{269,270}

Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR) ve TZP uygulamalarını bir arada değerlendiren yayınların sınırlı sayıda olduğu saptanmıştır.^{17,244} Camargo ve ark. interproksimal kemik içi defektlerinin tedavisinde polilaktik asit esaslı membran kullanılan YDR'nin tek başına uygulanmasını TZP/allogreft/YDR ile karşılaştırmıştır. Klinik parametreler ve re-entry ile elde ettikleri açık ölçümleri 6 ay sonra değerlendirdiklerinde, TZP/allogreft/YDR grubunun istatistiksel olarak daha üstün olduğunu bildirmişlerdir.²⁴⁴ Lekovic ve ark. ise aynı yıl yaptıkları benzer bir çalışmada periodontal kemik içi defektlerinin tedavisinde, kollajen membran uygulamasının TZP/allogreft kombinasyonuna katkısını incelemiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptamadıklarını belirtmişlerdir. Ayrıca TZP'nin, greft ve pıhtı stabilizasyonuna fibrin içeriği sayesinde yardımcı olduğu, epitel ve bağ dokusu hücrelerinin apikale migrasyonunu kök yüzeyine yapışarak önleme potansiyeline de sahip olabileceğini bildirmişlerdir.¹⁷

Üçüncü molar çekimleriyle oluşan sağlıklı çekim soketleri gibi, periodontal kemik içi defektlerden oldukça farklı morfoloji ve etyolojiye sahip kemik defektlerinde, tek başına TZP uygulamasıyla klinikte anlamlı sonuçlar bildirilmiş^{16,324} olsa da, kemik defektlerinin tedavisinde tek başına TZP uygulamasının konvansiyonel tedaviye anlamlı katkıları olmadığı da iddia edilmiştir.²⁷⁵ Greft uygulamalarıyla, tek başına açık flep

uygulamalarına kıyasla istatistiksel olarak daha üstün klinik ataşman kazancı sağlandığı bilinmekle birlikte TZP'nin tek başına ve YDR ile birlikte kullanılmasının sonuçlara anlamlı katkısı olmadığı gösterilmiştir.^{17,328,329} Bu nedenlerle, çalışmamızda tek başına TZP'nin ya da TZP/sığır kaynaklı kemik grefti karışımının YDR ile birlikte uygulandığı bir grubun varlığına gerek duyulmamıştır.

Hanna ve ark. ise 2004 yılında, 13 hastanın her birinde hem test hem kontrol bölgesi yer alacak şekilde, TZP'li (test) ya da TZP'siz (kontrol) sığır-kaynaklı heterogreftleri periodontal kemik içi defektlere uyguladıkları çalışmalarında, 6 aylık sonuçları CD, CAL ve DEÇ açısından değerlendirmişler, grup içi ve gruplar arası değerlendirmelerde test grubu lehine istatistiksel olarak önemli farklar saptadıklarını bildirmişlerdir.²⁷²

İlgenli ve ark. da 2007 yılında yaptıkları çalışmalarında yine TZP ile TZP/sığır kaynaklı kemik heterogrefti kombinasyonunun başlangıç ve 18. ay klinik ve radyografik verilerine göre değerlendirmişlerdir. TZP/sığır kaynaklı kemik grefti uygulamasında yalnız TZP kullanımına göre daha üstün sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir.²⁷⁴

Demir ve ark. ise periodontal kemik içi defektlerde TZP'nin etkinliğini TZP/bioaktif cam ya da sadece bioaktif cam uygulayarak, 12 aylık iyileşme dönemi sonrası klinik veriler ışığında değerlendirmiş, TZP'nin greft materyaline anlamlı bir katkısı olmadığını vurgulamışlardır.³³⁰

Markou ve ark. 2009 yılında yaptıkları benzer bir çalışmada 24 hastada belirlenmiş 24 periodontal kemik içi defekte yalnız TZP veya TZP ile birlikte sığır kaynaklı kemik grefti uygulamıştır. Klinik ataşman seviyesinin primer parametre olarak değerlendirildiği çalışmada başlangıç ve 6. ay verileri karşılaştırıldığında grup içi farklılıklar gözlenirse de, iki grup arasında klinik veya radyografik olarak anlamlı bir fark bulunamadığı bildirilmiştir.³³¹

Özdemir ve ark. 14 hastada bilateral kemik içi defektlere yalnız alloplastik kemik grefti veya TZP ile birlikte alloplastik kemik grefti uygulamış, tedavi öncesi ve 6 ay sonrası klinik ve radyografik durumu değerlendirmişlerdir. Buna göre her grupta başlangıca göre anlamlı gelişmeler olduğu gözlenirse de TZP'nin alloplastik kemik greftine anlamlı bir katkısının olmadığını gözlemlemişlerdir.³³²

Hassan ve ark. 2012 yayınladıkları çalışmalarında yalnız otojen kemik grefti veya TZP/otojen kemik grefti uygulamasını çalışmamızla benzer bir protokol izleyip split-mouth olarak dizayn ederek TZP'nin etkinliğini değerlendirmiştir. Klinik ve radyografik verilerin 3, 6, 9 ve 12. aylarda değerlendirildiği çalışmada TZP ile elde edilen sonuçların yalnız greft uygulanan bölgelerle karşılaştırıldığında daha üstün olduğu belirtilmiştir.³³³

TZP'nin etki süresinin kesin olarak bildirildiği bir yayın henüz literatür bilgilerimiz dahilinde yer almamakla birlikte, trombositler ve trombositlerden kaynaklanan büyüme faktörlerinin ömürleri ve etki süreleri pek çok otorite tarafından tartışılmıştır.^{243,290,334} Trombositlerin degranülasyonu ve büyüme faktörü salınımlarının ilk 3-5 günde

gerçekleşerek ve bu aktivitenin 7-10 gün sürdüğü bildirilmiştir.³³⁴ Trombositlerin ve dolayısıyla trombosit degranülasyonu sırasında açığa çıkan büyüme faktörlerinin direkt etkilerinin ortalama olarak ilk 5-6 günden sonra yavaş yavaş kaybolacağı, ancak aktif osteoblastların ömrünün yaklaşık 3 ay olduğu göz önüne alındığında, kemik tamirinin fizyolojik mekanizmasının kemik rejenerasyonu açısından hızlı bir şekilde devam edeceği öne sürülmekle birlikte TZP'nin özellikle iyileşmenin erken dönemlerinde etkili olduğu görüşünde otörler hem fikirdirler.^{243,290,334} Bu nedenle çalışmamızda, TZP etkinliğinin, tedavi sonrası 3. ve 6. aylarda değerlendirilmesi uygun bulunmuştur.^{17,244,272,312}

Çalışmamızda hem test, hem de kontrol gruplarımıza ait başlangıç PI ve GI değerleri, tedavi sonrası 3 ve 6. ayda elde edilen verilerle karşılaştırıldığında, her iki klinik parametre açısından da istatistiksel anlamlı azalma olduğu görülmüştür. Araştırmamızın sonucunda da, PI ve GI açısından elde edilen veriler, rejeneratif periodontal cerrahi tedavi sonrasında ilk ay her hafta ve sonraki aylarda da düzenli olarak ayda bir defa gerçekleştirilen hasta kontrollerinin, 3 ve 6 aylık dönemde, oral hijyen düzeyinin korunması ve iyileştirilmesi bakımından başarılı olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda, bulgularımızın, Cortellini ve ark. ile benzeri çalışmalarda belirtildiği gibi, ayda bir uygulanan idame seanslarının PI ve GI üzerine pozitif katkılarını ortaya koyan bulgularıyla da uyumlu olduğu izlenmiştir.^{272,316,332}

Araştırmamızın test ve kontrol gruplarına ait başlangıç CD (sırasıyla 6.67 ± 0.75 ve 6.60 ± 0.73) ve KAS değerleri (sırasıyla 7.43 ± 1.17 ve 7.51 ± 1.24) açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık olmadığı görülmüştür. Çalışmamızda test ve kontrol gruplarının cep derinliğinin başlangıçtaki değerlerine kıyasla 3. (sırasıyla 2.69 ± 0.46 ve

3.38±0.61) ve 6. (sırasıyla 2.58±0.78 ve 2.98±0.70) aylarda anlamlı seviyede iyileştiği izlenmiştir. KAS'nin de cep derinliği ile paralel şekilde test ve kontrol gruplarında 3. ayda (sırasıyla 3.59±0.78 ve 4.43±0.76) ve 6. aylarda (sırasıyla 3.28±0.84 ve 3.91±0.86) istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir. CD, KAS gibi klinik veriler tedavi öncesi ve sonrası değerlendirildiğinde diğer çalışmalarla benzer sonuçlar elde edilmiştir.^{272,330-332}

Hanna ve ark. 2004 yılında 13 hasta üzerinde bilateral vertikal defektlere sığır kaynaklı kemik grefti/TZP kombinasyonunu yalnızca greft uygulaması ile karşılaştırdıkları çalışmalarında kontrol grubunda başlangıçta 7.00 mm ölçülen CD'de 6. ayda 2.53 mm'lik, test grubunda ise başlangıçta 7.30 mm olan CD'de 3.54 mm'lik bir kazanç elde ettiklerini bildirmişlerdir. KAS düzeylerini değerlendirdiklerinde test grubunda başlangıçta 7.15 mm iken 3.15 mm, kontrol grubunda 7.07 iken 2.31 mm kazanç sağlandığını belirtmişlerdir.²⁷² Bizim çalışmamızda ise başlangıçta test grubunda 6.67 mm olan CD değerinde 3. ayda 3.98 mm, 6. ayda 4.09 mm'lik kazanç sağlanırken, kontrol grubunda başlangıçta 6.60 mm olan CD'de 3. ayda 3.22 mm, 6. ayda 3.62 mm'lik bir kazanç elde edilmiştir. KAS değerleri göz önüne alındığında ise çalışmamızda test grubunda başlangıçta 7.43 iken 3 ve 6. aylarda sırasıyla 3.84 mm ve 4.15 mm'lik; kontrol grubunda başlangıçta 7.51 mm iken 3 ve 6. aylarda sırasıyla 3.08 mm ve 3.60 mm'lik kazanç sağlandığı bulgulanmıştır. Her iki grubun CD değerlerindeki kazancın Hanna ve ark.'ın yaptığı çalışma ile uyumlu olduğu görülmektedir.²⁷² Çalışmamızda KAS seviyelerinde daha fazla kazanç elde edilmiş olsa da Hanna ve ark.'ın başlangıç KAS seviyelerinin daha yüksek olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca bu çalışmada 6. ay test grubu CD ve KAS değerlerindeki kazancın kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek olduğu bildirilirken araştırmamızda test grubunda daha yüksek kazanç elde

edilmesine rağmen bu kazancın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ortaya çıkmıştır.

Özdemir ve ark. 2011 yılında bilateral vertikal defektlere alloplastik greft materyali (kontrol), TZP/alloplastik greft (test) kombinasyonu uyguladıkları çalışmalarında 6 ay sonunda CD'de her iki grupta da 3 mm , KAS'ta kontrol grubunda 1mm, test grubunda 2.5 mm'lik kazanç elde edildiği bildirilmiştir.³³² Aynı araştırmada çalışmamıza benzer şekilde test grubunda daha fazla ataşman kazancı elde edilmesine rağmen kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı,³³² sonuçları bizim çalışmamız ile karşılaştırıldığında her iki grupta da CD ve KAS değerleri açısından daha az kazanç sağlandığı göze çarpmaktadır.

Demir ve ark. ile Markou ve ark. yaptıkları çalışmalarında; bizim çalışmamızla uyumlu şekilde başlangıçta birbirine yakın olan klinik parametrelerin (CD ve KAS) tedavi sonrası değerlendirmelerinde başlangıca göre anlamlı şekilde azalma gösterdiği ancak gruplararası değerlendirilmelerinde anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür.^{330,331} Özdemir ve ark.'ın greft materyali olarak sentetik kemik grefti, Demir ve ark.'ın bioaktif cam, Markou ve ark.'ın ise sığır kaynaklı kemik greftini seçmiş olmaları çeşitli greft materyallerinin TZP ile birlikte uygulamasının klinik olarak herhangi bir katkısı olmadığını düşündürmektedir.³³⁰⁻³³²

Bu verilerin tersine İlgenli ve arkadaşları periodontal kemik içi defektlerde TZP ile TZP/sığır kaynaklı kemik grefti uygulamasını karşılaştırdıkları çalışmalarında 18. ayda her iki grupta da CD ve KAS'da önemli düzeyde azalma gözlediklerini belirtmekle birlikte test grubundaki azalmaların istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla olduğunu

bildirmişlerdir. Hassan ve ark. 2010 yılında yalnız otojen greft ile TZP/otojen greft uygulamalarının karşılaştırıldığı çalışmada, CD ve KAS değerlerinde TZP ve otojen kemik grefti kombinasyonunda daha fazla azalma olduğunu bulgulamışlardır.

Kemik defektinin morfolojisi ve kemiğin yapısının anlaşılabilmesi için cerrahi sırasında direkt ölçümlerin yapılması önerilmiştir.¹⁰ Defekt bölgesine dair direkt ölçümlerin elde edilmesi ve karşılaştırılabilmesi için re-entry^{17,244,312} metodu ideal ve objektif gibi gözükse de, etik onayı bulunmamasından dolayı çalışma bölgelerimizin uzun dönemli takipleri için re-entry yöntemi tercih edilememiştir.

Radyografik incelemeler klinik verileri desteklemek üzere yıllardır tercih edilen bir metottur.^{216,272,276,319,335} gerçeğe en yakın boyutlara sahip radyografilerin elde edilebildiği uzun kon paralel tekniği en sık kullanılan yöntem olarak ve tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırılmak amacıyla sıklıkla tercih edilmektedir.^{310,319,335} Anatomik ve patolojik oluşumların 3 boyutlu yapısını, 2 boyutlu olarak görüntüleyen radyografik sistemlerin, tek başlarına kemik defektleriyle ilgili bilgi vermekte yetersiz oldukları, ancak, klinik verileri desteklemek için kullanılabileceği belirtilirken, radyografik ölçümlerin, interproksimal kemik içi defektlerin tedavi sonuçlarını ortaya koymada eşit derecede güvenilir olduğu vurgulanmıştır.³³⁶

Günümüzde, direkt dijital radyografilerin kullanımının başlaması ile (DDR) standart konvansiyonel radyografilerde banyo sırasında oluşabilecek sorunların ortadan kalktığı bildirilmiştir.³³⁷ Dijital radyografilerin sensörünün konvansiyonel periapikal filmlere göre küçük,

kolay konumlandırılabilir ve bükülmez olmasından kemik kayıplarını belirlemede daha hassas ve güvenilir olduğu savunulmuştur.³³⁸ Bu nedenle, çalışmamızda da, tüm radyografiler uzun kon paralel tekniği ve DDR kullanılarak elde edilmiş ve standardizasyon sağlayabilmek amacıyla film tutucular çevresine kişiye ve bölgeye özel silikon esaslı ölçü maddesinden ısırma stentleri hazırlanarak elde edilmiştir.³³⁹

Radyografik ölçümlerde, genellikle mine-sement sınırının (MSS) anatomik rehber nokta olarak alındığı, ancak, dişlerde bulunan sabit restorasyonların da rehber nokta olarak kullanılabildiği belirtilmiştir.^{339,340} Sağlıklı periodontal ligament genişliğinin devamlılık gösterdiği, en kuralde kök yüzeyi ile birleştiği noktanın defekt tabanı (DT)^{339,340,341}, alveol kreti gölgesinin kök yüzeyi ile birleştiği nokta ise alveol kreti (AK) olarak kabul edilmiştir.²⁷⁴ MSS-DT arası mesafenin belirlenmesi ile vertikal kemik yüksekliği, AK-DT arası uzaklığın ölçülmesi ile defektin kemik içi komponent derinliği (defekt çözünümü) olarak hesaplanmaktadır. Kemik içi defekt açısı ise MSS ile DT'yi birleştiren çizgi ile DT'yi kemik içi defektin alveol kretinin komşu dişe yaklaştığı en kural noktası ile birleştiren çizginin arasında kalan açı olarak gösterilmiştir.^{274,331} Bu bilgiler doğrultusunda, çalışmamızda her hastadan elde edilen standart dijital radyografilerde, kemik içi defect derinliklerini saptamaya yönelik lineer ve açısal ölçümler bilgisayar programı aracılığıyla ölçülerek değerlendirilmiştir.

Çalışmalarda, standart dijital radyografiler kullanılmasına rağmen, radyografik verilerin klinik ölçümlerle karşılaştırılmasında, re-entry gibi açık veya sondlama gibi kapalı olmak üzere farklı klinik ölçüm yöntemlerinin kullanılmasının, karşılaştırma sonuçlarını etkilediği görülmektedir.³⁴²⁻³⁴⁴ Diğer yandan, peridontal cep tabanı ve alveol kret tepesi arasındaki mesafenin, sondlama ile elde edilen klinik veriler ile

radyografik veriler arasında farklılık yaratabileceği bilinmektedir.³⁴⁰ Çalışmamızda, tedavi sonrası 3 ve 6 aylık dönemin sonunda elde edilen radyografik verilerin, klinik veriler ile uyumlu olduğu bulgulanmıştır. Son yıllarda, bilgisayarlı tomografiler ve bilgisayar destekli densitometrik görüntü analizleri gibi, 3 boyutlu hassas görüntüleme sistemleri ön plana çıkmış olsalar da, yüksek maliyetlerinden dolayı, bu sistemlerden yararlanımlarının oldukça sınırlı olduğu görülmektedir.

Literatür incelendiğinde periodontal kemik içi defektlere sığır kaynaklı kemik grefti veya TZP ile birlikte sığır kaynaklı kemik grefti uygulayarak radyolojik olarak çalışmamızla benzer şekilde karşılaştıran çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak 2007 yılında İlgenli ve ark. yaptıkları çalışmada TZP veya TZP/sığır kaynaklı kemik grefti uygulamasının etkinliğini radyolojik olarak MSS-DT (vertikal kemik yüksekliği), AK-DT (kemik içi component derinliği-defekt çözünümlü) ve defekt açısı verilerinin yardımı ile değerlendirmişlerdir.^{274,345} Başlangıç ve tedaviden 18 ay sonraki veriler bilgisayar programı yardımı ile lineer olarak karşılaştırıldığında TZP/greft grubunun MSS-DT ve AK-DT seviyelerinde TZP grubuna göre anlamlı derecede düşüş kaydedildiği belirtilmiştir. Defekt açısının ise TZP/greft grubunda TZP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı bildirilmiştir. Karakurum ve ark. 2008 yaptıkları TZP,TZP/YDR ve flep operasyonu uygulamalarının karşılaştırıldığı çalışmalarında da başlangıç, 3 ve 6. ayda vertikal kemik yüksekliği, defekt çözünümlü ve açısını yine bilgisayar programı aracılığı ile değerlendirmişlerdir. ³⁴⁵ Bütün gruplarda 3 ve 6. aylarda kaydedilen vertikal kemik yüksekliğinde ve defekt çözünümlünde azalma ve defekt açısında artmanın başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulgulanmakla birlikte gruplar arası değerlendirmede fark bulunmadığı vurgulanmıştır. Her iki çalışmada da direkt dijital radyografiler oluşturduğumuz çalışmamızdan farklı olarak konvansiyonel radyografilerin

taranarak bilgisayar ortamına aktarılması ile dijital radyografler elde edilmiştir. Anatomik sınırlar arası mesafelerin lineer ölçümü ise yine çalışmamızla benzer bir bilgisayar programı piksel değerlerinin milimetrik ölçüm sistemine dönüştürülmesi şeklinde yapılmıştır.

Çalışmamızda test ve kontrol gruplarında vertikal kemik yüksekliği (MSS-DT) ve kemik içi komponent derinliğinin (defekt çözünümlü) 3 ve 6 ay sonraki değerlendirmelerinde başlangıca göre anlamlı seviyede azalmış olduğu belirlenmiştir. 3 ve 6. ayların kendi aralarında karşılaştırmalarında da anlamlı bir düşüş olduğu gözlenmiştir. Bu verilerin test ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırması yapıldığında MSS-DT mesafesinde 3. ve 6. aylarda test grubunda daha fazla azalma kaydedilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulgulanmıştır. AK-DT mesafesinin de benzer şekilde her iki grupta da takip dönemlerinde anlamlı seviyede azaldığı belirlenmekle birlikte gruplararası değerlendirmede yine test grubunda daha fazla azalma olmasına rağmen farkın anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Defekt açısı değerleri göz önüne alındığında 3 ve 6. ay ölçümlerinin başlangıca göre, 6. ay değerlerinin ise 3. aya göre anlamlı seviyede yüksek olduğu ortaya çıkmıştır. Test ve kontrol gruplarının defekt açısı değerleri karşılaştırıldığında değerlendirme periodları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bu veriler greft kullanılan bölgeler ile TZP/greft kullanılan bölgelerde paralel seyreden kemik yapımının 3 ve 6. aylarda devam ettiğini, TZP kullanımının radyolojik açıdan istatistiksel fark olmasa da belirli bir miktar katkı sağladığını göstermektedir.

Çalışmamızda, konu ile ilgili literatürlerle uyumlu olarak, TZP'nin granüllü yapıdaki sığır kaynaklı kemik greft materyaliyle

karıştırıldığında granülleri bir arada tutup, karışımın bütünlüğünü sağladığı, manüpilasyonu kolaylaştırdığı, greftin defekt bölgesinde stabilizasyonunu ve immobilizasyonunu arttırdığı görülmüştür.^{245,326} 3 ve 6. ayın sonunda TZP grubundaki klinik kazanımların daha fazla olduğu izlense de, gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulgulanmaması, her iki yönteminde 3-duvarlı periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde başarılı olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda, test grubuna (TZP/Bio-Oss) ve kontrol grubuna (yalnızca Bio-Oss) ait klinik ve radyografik veriler, birbirileriyle karşılaştırıldığında, her 2 gruba ait başlangıç verileri arasında istatistiksel anlamlı farklılık olmadığı izlenmiştir, grup içi değerlendirmelerde incelenen klinik ve radyografik parametrelerin hepsinde tedavi öncesi ve sonrası 3 ile 6. ay değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmekle birlikte gruplar arası değerlendirmelerde test grubunda daha iyi sonuçlar elde edilse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Çalışmamız sınırları içerisinde, sonuçlarımız insan peridontal kemik içi defektlerinin tedavisinde yalnız sığır kaynaklı kemik grefti kullanımıyla, bu greftin TZP ile kombinasyonundaki etkinliğe yakın düzeyde bulgular tespit edilmiştir.

Literatürde TZP'nin etkinliğini çeşitli biyomateriyaller ile karşılaştırarak klinik ve radyografik açıdan değerlendiren bahsettiğimiz pek çok çalışma yer almasına rağmen konunun immünolojik olarak incelendiği benzer bir çalışma tespit edilememiştir. Kemik yapım ve yıkımında dolayısıyla da periodontitis patolojisinde etkili olduğu kanıtlanan OPG/RANKL ile IL-1 β ve IL-17 'nin DOS'taki seviyelerini birlikte analiz ederek TZP'nin kemik yapımında ne derece etkin olduğunu belirlemeyi amaç edinen çalışmamıza benzer bir çalışmaya şu ana kadarki bilgilerimiz ışığında rastlanamamıştır.

Periodontal hastalıkların teşhisinde ve periodontal tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde klinik ölçümler hastalığın şiddeti hakkında bilgi vermekle birlikte hastalığın aktivasyonunun belirlenmesinde yetersiz kalmaktadır.³⁷ DOS'un içeriğini oluşturan bakteriyel ve konak doku kaynaklı ürünler periodontal hastalıkların teşhis ve patogenezinde yer alan parametreler olarak analiz edilirken hücresel ve humoral yanıtlar ile akut iltihabi cevabın mekanizması hakkında önemli bilgilere ulaşılmıştır.^{49,50,52,346} Bu sebeple DOS'un biyokimyasal ve immünolojik analizlerinin periodontal hastalık aktivasyonunun saptanmasında ve periodontal durumun dönemsel değerlendirmelerinde faydalı olabileceğinin ileri sürülmesinden sonra^{37,38} DOS'da konak doku cevabından kaynaklanan moleküllerin seviyelerindeki artma azalma gibi değişimler periodontal hastalıkların patogenezi ile ilişkilendirilerek değerlendirilmiştir.^{47,53,347,348}

DOS içeriğinin hastalık aktivitesi ile direkt ilgisinin araştırmacılar tarafından vurgulanması sebebi ile çalışmamızda klinik indeksler ve radyolojik bulgular ile birlikte DOS örneklerinin biyokimyasal olarak değerlendirilmesi uygun bulunmuştur.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarla DOS örneklerinin elde edilmesinde, en güvenilir ve pratik yöntemin kağıt şeritler olduğu iddia edilmiştir.⁴⁷ İşlem sırasında irritasyona sebep olmamak ve böylece bazı sitokinlerin salınımını tetiklememek amacıyla orta dereceli basınç ve 30 sn toplama süresinin yeterli olduğu belirtilmiştir. DOS'nin toplanma süresinin biyolojik gösterge miktarlarını etkilediği öne sürüldüğü için³⁴⁹ çalışmamızda standart kağıt şeritler 30 sn süre ile orta derecede basınç hissedilinceye kadar cep içerisine yerleştirilerek örnekler toplanmıştır.

Çalışmamızda test ve kontrol grupları aynı bireylerden oluşturularak konağa ait değişkenler elimine edilmiştir. Aynı zamanda DOS'ta araştırılan inflamatuvar göstergelerin salınımının yalnızca klinik parametrelere bağlı olmayıp konağa bağlı faktörlerle de ilişkilendirilmesi ortadan kaldırılmıştır. Ayrıca inflamasyon derecesi ile korole edilebilen DOS miktarındaki artışın, DOS örneklerinde araştırılan biyolojik parametrelerin konsantrasyonlarının azalmasına neden olacağı ve DOS sitokin konsantrasyonundan ziyade total miktarının periodontal hastalığın klinik durumu ile daha yüksek oranda ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda araştırdığımız sitokinlerin hem total miktarları hem de konsantrasyonları hesaplanarak değerlendirilmiştir.^{350,351}

Çalışmamızda hastalarda 'osteoklastogenezis inhibe edici faktör' olarak isimlendirilen çözünebilir glikoprotein yapısında bir sitokin reseptörü olan OPG ile IL-17 ve IL-1β'nın DOS daki seviyeleri spesifik antijen-antikor bağlanması prensibine dayalı ELİSA yöntemi kullanılarak incelenmiştir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda kemik yapım-yıkım sürecinin değişik aşamalarında tümör nekrozis faktör (TNF) süper ailesine dahil üç anahtar molekül olan OPG, RANK ve RANKL moleküllerinin etkin olduğu ortaya konmuştur.^{25,92,100} 1997 yılında OPG olarak isimlendirilen ve kemik yıkımını engellediği belirlenen proteinin bulunmasının ardından^{25,26} osteoklastlarda bulunan ve RANKL ile uyarılarak kemik yıkımını başlatan reseptör olan RANK tanımlanmıştır.^{92,100} Kemik yapım-yıkım dengesini değerlendirerek metabolik kemik hastalıklarının araştırıldığı günümüz çalışmalarında bu proteinler değerlendirilerek kemik metabolizmasındaki rollerinin tam olarak belirlenmesine çalışılmaktadır.³⁵²⁻³⁵⁴

RANKL ve OPG konsantrasyonları çalışmalar arasında farklılık gösterse de genel olarak eğilim aynı olup, RANKL/OPG oranı periodontitisli bireylerde sağlıklı gruba göre yüksek bulunmaktadır.^{147-150,355} Bu bulgular RANKL ve OPG'nin periodontal hastalıktaki osteoklastogenezis ve kemik kaybında önemli yeri olduğunu vurgulamaktadır. Periodontal hastalıkla RANKL/OPG oranındaki artış bağlantılı olsada bu oranın hastalık şiddeti ile bağlantısı henüz tam olarak ortaya konulamamıştır.

Bostancı ve arkadaşları sağlıklı, gingivitisli, generalize agresif periodontitisli ve kronik periodontitisli hastalarda yaptıkları çalışmada RANKL seviyelerini sağlıklı ve gingivitisli bireylerde düşük, tüm periodontitisli hastalarda yüksek; OPG seviyelerini sağlıklı grupta diğer gruplara oranla yüksek bulmuş ve dokulardaki artmış RANKL/OPG seviyelerinin periodontitis varlığını gösterebileceğini bildirmişlerdir.¹⁴⁹

Lu ve ark. 20 generalize kronik periodontitisli hastayı dahil ettikleri çalışmalarında hastalıklı bölgelerde RANKL düzeylerinin yüksek olduğunu ancak RANKL ve OPG düzeylerinin hastalık şiddeti ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir.¹⁵⁰ Bu çalışmaya paralel olarak Vernal ve ark. yaptığı çalışmada periodontal hastalıktan etkilenmiş bölgelerde RANKL düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olduğunu bu bulgunun da RANKL'ın alveoler kemik yıkımındaki önemini gösterdiğini belirtmişlerdir.³⁵⁵

Mogi ve ark. farklı şiddetteki hastalık seviyelerine sahip 132 kronik periodontitisli hastada yaptıkları çalışmada DOS örneklerinde artmış konsantrasyonda RANKL ve azalmış seviyelerde OPG

saptamışlardır. RANKL/OPG oranları periodontal hastalıklı bireylerde sağlıklı bireylere oranla anlamlı derecede yüksek bulunmuş ve bu bulguya dayanarak OPG'nin kemik yıkımı ile karakterize hastalıklarda koruyucu role sahip olduğunu rapor etmişlerdir.¹⁴⁸

Babür ve ark. menopoz-premenopoz dönemindeki periodontitis veya gingivitisli hastalarda faz 1 tedavi sonucu DOS OPG konsantrasyon ve total miktar değişimini değerlendirdikleri çalışmalarında periodontitisli gruplarda OPG konsantrasyon ve total miktarlarının gingivitisli gruplara göre daha fazla olduğunu, tedavi sonrası ise bütün gruplarda bu miktarlarda artma tespit edildiğini bildirilmekle birlikte bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirtmişlerdir.³⁵⁶ Buduneli ve ark. ise sigara içen ve içmeyen kronik periodontitisli bireylerde faz 1 tedavi sonrası DOS OPG konsantrasyonlarında belirgin azalmalar elde ettiklerini bildirmişlerdir. Ancak bu azalma, CD ve KAS seviyelerinin tedavi öncesi ve sonrası yüksek olması dolayısıyla faz 1 tedavinin yetersizliği ile ilişkilendirilmiştir.³⁵⁷

Kontrol altında olan veya olmayan tip 2 diabetli kronik periodontitisli hastalarda Santos ve ark. faz 1 tedavi sonrası 3. ayda DOS OPG konsantrasyonlarında belirgin artışlar bulgulamışlardır.³⁵⁸ Benzer bir çalışmada Bostancı ve ark. kronik veya agresif periodontitisli hastalarda faz 1 tedaviyi takiben 2, 3 ve 4. ay değerlendirmelerinde OPG total miktar ve konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı olmayan artışlar bildirmişlerdir.³⁵⁹

Çalışmamızda diğer çalışmalardan farklı olarak kemik içi defektlerin periodontal cerrahi tedavisi, etkinliği belirlenmiş greft ile TZP

uygulamasının immünolojik olarak DOS'ta OPG total miktar ve konsantrasyon seviyeleri ile değerlendirilmiştir. DOS OPG total miktar ve konsantrasyon seviyeleri 3 ve 6. aylarda cerrahi öncesine göre her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artarken, bu artışın test grubunda daha fazla olduğu belirlenmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadığı bulgulanmıştır. Bu durum klinik ve radyografik olarak saptanan kemik yapısının immünolojik düzeyde de sağlandığını ve bu değerlendirmelerin diğer çalışmalarla da paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.^{356,148,359}

Araştırmamızda bu değişkenler standardize edilerek, her iki grupta da 3 ve 6. aylarda DOS hacminde azalmalar kaydedilmiş, zamanla artan DOS OPG total miktarlarındaki artışa paralel bir şekilde OPG konsantrasyonlarında da başlangıç seviyesine göre anlamlı seviyede artış gözlenmiştir. Çalışmamızda diğer çalışmalarla uyumlu olarak, periodontal tedavi ile birlikte OPG total miktarı ve konsantrasyon seviyelerinin artış gösterdiği doğrulanmıştır. Gruplararası değerlendirmede ise TZP lehine yüksek sonuçlar elde edilmesine rağmen istatistiksel olarak fark bulunmaması, TZP'nin periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde greft uygulamasına beklenen katkıyı yeterince sağlayamadığını düşündürmektedir.

Yardımcı T hücrelerinin alt kümesi olarak yeni tanımlanan Th17 lenfositlerinin periodontal hastalıklardaki yeri ve önemi son yıllarda araştırılmaktadır. Bu hücrelerden salınan IL-17, IL-6 ve TNF- α gibi inflamatuvar mediatörlerin üretimini stimüle eden proinflamatuvar bir sitokin olarak tanımlanmıştır.⁷⁸ Th17 lenfositleri daha çok bakterilere karşı korunma amacıyla fagositlerin uyarılması ile ilişkilendirilse de alveolar kemik rezorpsiyonunu da başlattığı ve IL-17'nin periodontal doku

yıkımından sorumlu sitokinlerden biri olarak periodontitis patogeneğinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir.^{82,85}

Duarte ve ark. generalize agresif periodontitisli bireylerin serumlarında kronik periodontitisli ve sağlıklı bireylerin serumlarından daha fazla miktarda IL-17 tespit ettiklerini bildirmişler ve bu artışı inflamatuvar mediatörlerin salınımını kontrol eden genlerin polimorfizmi ile ilişkilendirmişlerdir.³⁶⁰ Schenkein ve ark. da generalize agresif periodontitisli hastaların serumlarında belirledikleri artmış IL-17 seviyesini periodontal dokularda lokal olarak üretilen sitokinlerden kaynaklanmış olabileceğini belirtmişlerdir.³⁶¹ Vernal ve ark. ise DOS IL-17 total miktarlarının kronik periodontitisli bireylerde sağlıklı bireylere oranla artmış seviyede olduğunu bulgulamışlardır. Ayrıca IL-17'nin kemiği rezorbe eden kemokinlerin konsantrasyonunu artırarak periodontitisin ilerleyişini düzenleyip periodontal yıkımda görev aldığını vurgulamışlardır.^{85,362} Shaker ve ark. ise kronik ve agresif periodontitisli bireylerde sağlıklılara göre daha düşük konsantrasyonda IL-17 tespit etmişler ve bu durumu cep derinliği 5 mm'den fazla olan periodontal hastalıklı bölgelerde daha yüksek miktarda cep sıvısı bulunması ile açıklamışlardır.³⁶³

Buduneli ve ark. ise sigara içen ve içmeyen kronik periodontitisli bireylerde faz 1 tedavi öncesi ve sonrası OPG/RANKL ve IL-17 seviyelerini değerlendirdikleri çalışmalarında tedavi sonrasında OPG total miktar ve konsantrasyon seviyelerinde azalma, IL-17 düzeylerinde ise artış saptadıklarını bildirmişlerdir. IL-17 seviyelerindeki artışın tedavi sonrası azalan DOS hacmi ile ilişkilendirmişlerdir.³⁵⁷

Bizim çalışmamızda ise DOS IL-17 total miktarlarında test grubunda 3 ve 6. aylarda başlangıca göre anlamlı düzeyde azalma kaydedildiği, konsantrasyon seviyelerinde ise 3. ayda azalma sağlanmakla birlikte 6. ayda azalan DOS hacimlerinin etkisi ile 3. aya göre 6. ayda artma olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubunda ise IL-17 total miktarlarının azalma kaydederek 3 ve 6. aylarda sabit kaldığı, konsantrasyonlarının ise 3. ayda azaldığı, 6. ayda yine DOS hacminin azalması ile arttığı belirlenmiştir. Ayrıca IL-17 seviyelerinde test grubunda kontrol grubuna göre daha fazla azalma olduğu saptanmakla birlikte bu azalmanın gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı bulgulanmıştır. Sonuçta her iki grupta da periodontal sağlık durumunda düşük IL-17 seviyeleri saptanmış ve iki tedavinin de periodontal inflamasyon eliminasyonunun gerçekleştirilmesinde aynı derecede etkin olduğu saptanmıştır.

IL-1 β 'nın IL-17 gibi alveoler kemik rezorpsiyonunu stimüle ettiği ve aktif periodontal lezyonlarda fazla miktarda salındığı bilinmektedir. IL-17 ile birlikte IL-1 β osteoblast ve CD4 T hücrelerinde RANKL ekspresyonunu uyararak osteoklastojenik aktivitelerini ortaya çıkaran bir osteotropik faktör olarak lokal inflamasyonda ve osteoimmünolojide düzenleyici olarak görev aldığı bildirilmiştir.^{23,364}

Günümüze kadar pek çok çalışmada IL-1 β total miktar ve konsantrasyonlarının kronik ve agresif periodontitiste arttığı faz 1 tedavi sonrası ise azaldığı tespit edilerek periodontitis patogenezinde önemli bir yer tuttuğu ve doku yıkımında kilit molekül olarak yer aldığı vurgulanmıştır.⁶⁹⁻⁷²

Bizim çalışmamızda IL-1 β total miktarlarında test grubunda 3 ve 6. aylarda başlangıca göre azalma kaydedildiği, konsantrasyonda düşen DOS hacimlerinin de etkisiyle artma olduğu bulgulanmakla birlikte bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise IL-1 β total miktarının 3. ayda başlangıca göre azaldığı, 6 ayda ise başlangıca göre azalmış olmasına rağmen 3. aya göre artmış olduğu, konsantrasyonun ise 3. ayda azaldığı, 6. ayda her iki döneme göre artmış olduğu ancak bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Başlangıç, 3 ve 6. aylarda kaydedilen değişimlerin gruplar arası değerlendirmesinde ise test grubunda zamanla IL-1 β total miktarının daha fazla azaldığı gözlenmesine rağmen bu farkın anlamlı olmadığı bulgulanmıştır. Bu durum aktif periodontal lezyonun bulunmadığı durumlarda düşük seviyelerde IL-1 β saptanan çalışmalarla paralellik sağlamış olup tedavi sonrası periodontal sağlık durumunun idame ettirildiğini kanıtlamıştır.

Sonuç olarak çalışmamızda kemik içi defektlerin tedavisinde TZP kullanımının greft uygulamasına istatistiksel olarak anlamlı olmasa da klinik, radyografik ve immünolojik olarak katkı sağladığı bulgulanmıştır. Araştırma verilerimize dayanarak, kemik içi defektlerin tedavisinde TZP/greft veya sadece greft uygulamasının değerli birer tedavi seçeneği olabileceği tespit edilmiştir.

Araştırmamız periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde TZP/sığır kaynaklı kemik grefti kombinasyonu ile yalnızca sığır kaynaklı kemik grefti uygulamalarının klinik, radyografik ve immünolojik olarak karşılaştırıldığı ilk çalışmadır. Periodontal kemik içi defektlerinin tedavisinde, farklı defekt morfolojisi, lokalizasyon, greft materyali, farklı değerlendirme metotları ve süresi ile değişik TZP yöntemlerinin sonuçları

etkileyeceği göz önünde bulundurularak TZP'nin diğer biyomateryaller ile kombine kullanımını karşılaştıran longitudinal ileriki çalışmalara ihtiyaç duyulduğu görüşündeyiz.

6. SONUÇLAR

Periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde TZP'nin etkilerini incelemek için 15 kronik periodontitisli bireyde 3-6 aylık iyileşme dönemlerini değerlendirdiğimiz çalışmamızda;

1. Kullanılan TZP hazırlama yönteminin hasta konforu açısından sıkıntı yaratmayan ve uygulaması kolay bir yöntem olduğu izlenmiştir.
2. Her iki grupta da klinik iyileşmenin sorunsuz olarak gerçekleştiği gözlenmiştir.
3. Başlangıç klinik, radyografik ve immünolojik değerler karşılaştırıldığında fark olmadığı bulgulanmıştır.
4. Tedavi sonrası 3. ayda test ve kontrol gruplarında CD, KAS, GI, SK gibi klinik ölçümlerinde kaydedilen azalmaların istatistiksel olarak anlamlı olduğu, gruplar arası değerlendirmede test grubu CD ve KAS değerlerinde daha fazla azalma olmasına rağmen bu azalmaların istatistiksel bir fark yaratmadığı belirlenmiştir.
5. Tedavi sonrası 3. ayda radyografik değerlendirmede her iki grupta da MSS-DT ve AK-DT değerlerindeki azalmanın ve defekt açısındaki artışın anlamlı olduğu, gruplar arası

değerlendirmede bu parametreler açısından farkın bulunmadığı tespit edilmiştir.

6. Tedavi sonrası 3. ve 6. aylarda immünolojik değerlendirmede her iki grupta da OPG seviyelerinde başlangıç değerlerine göre anlamlı ve benzer artışların olduğu gözlenmiştir.
7. IL-17 total miktarı test grubunda 3 ve 6. aylarda başlangıca göre anlamlı düzeyde azalmaya devam etmiş, kontrol grubunda 3. aya kadar azalmış, 6. aya kadar aynı seviyede kalmıştır. IL-17 konsantrasyonları ise her iki grupta da 3. ayda azalıp 6. ayda artmasına rağmen bu değişimlerin grup içi ve gruplar arası anlamlı olmadığı bulunmuştur.
8. IL-1 β total miktarlarının test grubunda başlangıç seviyesine göre düştüğü, kontrol grubunda 3. ayda azalıp 6. ayda aynı seviyede kaldığı belirlenmiştir. Konsantrasyonlarının ise test grubunda takip dönemlerinde benzer seviyelerde seyrettiği, kontrol grubunda 6. ayda yükseldiği belirlense de bu değişimlerin grup içi ve gruplar arası istatistiksel bir fark yaratmadığı bulgulanmıştır.
9. Klinik, radyografik ve immünolojik olarak TZP ve TZP/sığır kaynaklı greft uygulamalarının anlamlı gelişmeler sağladığı gözlenmiştir.

10. TZP/sığır kaynaklı kemik grefti kombine uygulamasının CD, KAS gibi klinik, vertikal kemik yüksekliği (MSS-DT) ve defekt çözünümlü (AK-DT) gibi radyografik ve OPG total miktarı gibi immünolojik değişkenler açısından anlamlı olmasa da daha başarılı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.
11. Kontrol grubunda elde edilen klinik, radyografik ve immünolojik bulgularla, kemik içi defektlerin tedavisinde tek başına greft de uygulanabileceği kanıtlanmıştır.
12. Sonuç olarak bu çalışmada, TZP ile kemik greftinin kombine kullanımının, kemik içi defektlerinin tedavisinde alternatif ve güvenilir bir tedavi seçeneği olabileceği ortaya konmuştur.

7.ÖZET

“Trombositten Zengin Plazma” (TZP)’nin yara iyileşmesi ve rejenerasyondaki etkisinin içindeki büyüme faktörlerine bağlı olduğu iddia edilmekte ve bu nedenle kemik içi defektlerin tedavisinde sığır kaynaklı kemik grefti (Bio-Oss) gibi çeşitli greft materyalleri ile birlikte kullanılmaktadır.

RANKL, osteoklastogeneziste önemli bir reseptör olup metabolik kemik hastalıklarının patogenezinde rol oynamaktadır. RANKL’nin etkileri OPG-osteoprotegerin tarafından inhibe edilmektedir. RANKL/OPG, IL-17 ve IL-1 β oranı kemik hastalıklarının patogenezinde önemli rol oynamaktadır.

Çalışmamızda periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde TZP’nin etkinliğinin klinik, radyografik ve immünolojik olarak aydınlatılması amaçlanmıştır. Bu nedenle TZP’nin Bio-Oss ile uygulanması öncesi ve sonrasında dişeti oluşu sıvısı OPG/RANKL, IL-1 β , IL-17 seviyeleri test edilerek 3 ve 6. aylardaki etkinliğinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Bu amaçla periodontitisli ve bilateral vertikal defekleri olan 15 hastaya 30 defekt belirlenmiştir. Klinik, radyografik ve immünolojik parametreler tedavi öncesi ve sonrası 3. ve 6. aylarda ölçülerek karşılaştırmak üzere kaydedilmiştir. Her bir çalışma grubu için klinik, radyografik ve immünolojik değişkenlerin takip dönemi boyunca istatistiksel olarak gruplar arası değişimleri independent t test ile, her dönem grup içi değişimler ise paired t test ile değerlendirilmiştir.

Tedavi sonrası klinik ve radyografik parametreler değerlendirildiğinde test ve kontrol bölgelerinde önemli gelişmelerin sağlandığı ancak gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı tespit edilmiştir. Dişeti oluşu sıvısı OPG seviyelerinin test grubunda daha belirgin olmakla birlikte her iki grupta da arttığı, IL-17 ve IL-1 β seviyelerinin ise azalmış olduğu ancak bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Her iki uygulamada da tedavi sonrası klinik, radyolojik ve immünolojik olarak önemli gelişmeler kaydedilmiş ancak gruplar arası değerlendirmede bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

8.SUMMARY

In recent studies it is pointed out that “ Platelet-Rich Plasma” (PRP), may have potential to stimulate regeneration and accelerate the healing process of the wound. The researches about PRP are concentrated on the use of grafts like deproteinized bovine bone (Bio-Oss) in combination with PRP in dentistry.

RANKL-receptor activator of NF- κ B ligand, IL-17, IL-1 β and osteoprotegerin-OPG are essential cytokine for osteoclastogenesis and important in the pathogenesis of human metabolic bone diseases.

The aim of this study was to evaluate the efficiency of PRP clinically , radiographically and immunologically in the intrabony defects when it was used with Bio-Oss which OPG/RANKL, IL-1 β and IL-17 levels of gingival crevicular fluid were collected and analyzed by the end of 3 and 6 months of healing periods.

30 defects of 15 patients with periodontitis were treated with Bio-Oss or Bio-Oss and PRP . The clinical, radiographic and immunological evaluation were obtained and recorded before and 3-6 months after the treatment. The changes were tested statistically with independent t test and paired t test.

After the treatment clinical and radiographical measurements improved in both groups, GCF OPG levels increased and IL-17, IL-1 β levels decreased in both groups. However better improvements were recorded in test group, it was not statistically significant.

These results suggest that periodontal treatment with PRP/graft seems to be more effective than graft only in terms of GCF bone markers like OPG, IL-17 and IL-1 β but it is not statistically significant.

9.KAYNAKLAR

1. Newman MG T, Takei H, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology. 9th ed. W.B. Saunders Co. 2002.
2. Listgarten MA. Pathogenesis of periodontitis. J Clin Periodontol 1986;13:418-430.
3. Goldman H C, WD. The Infrabony Pocket: Classification and Treatment. J. Periodontol 1958;29:272.
4. Pitaru S, McCulloch CA, Narayanan SA. Cellular origins and differentiation control mechanisms during periodontal development and wound healing. J Periodontal Res 1994;29:81-94.
5. Rosen PS, Reynolds MA, Bowers GM. The treatment of intrabony defects with bone grafts. Periodontol 2000 2000;22:88-103.
6. Sanz M, Giovannoli JL. Focus on furcation defects: guided tissue regeneration. Periodontol 2000 2000;22:169-189.
7. Kawanami M, Sugaya T, Kato Set al. Efficacy of an ultrasonic scaler with a periodontal probe-type tip in deep periodontal pockets. Advances in dental research 1988;2:405-410.
8. Cortellini P, Tonetti MS. Focus on intrabony defects: guided tissue regeneration. Periodontol 2000 2000;22:104-132.
9. Cortellini P, Bowers GM. Periodontal regeneration of intrabony defects: an evidence-based treatment approach. The International journal of periodontics & restorative dentistry 1995;15:128-145.
10. Carnevale G, Kaldahl WB. Osseous resective surgery. Periodontol 2000 2000;22:59-87.
11. Misch CM. Use of the mandibular ramus as a donor site for onlay bone grafting. The Journal of oral implantology 2000;26:42-49.
12. Rosenberg E, Rose LF. Biologic and clinical considerations for autografts and allografts in periodontal regeneration therapy. Dent Clin North Am 1998;42:467-490.
13. Wiltfang J, Kloss FR, Kessler Pet al. Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogenous bone and bone

substitutes in critical-size defects. An animal experiment. Clin Oral Implants Res 2004;15:187-193.

14. Kovacs K, Velich N, Huszar Tet al. Comparative study of beta-tricalcium phosphate mixed with platelet-rich plasma versus beta-tricalcium phosphate, a bone substitute material in dentistry. Acta veterinaria Hungarica 2003;51:475-484.
15. Richardson CR, Mellonig JT, Brunsvold MA, McDonnell HT, Cochran DL. Clinical evaluation of Bio-Oss: a bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. J Clin Periodontol 1999;26:421-428.
16. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. The International journal of oral & maxillofacial implants 1999;14:529-535.
17. Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Kenney EB. Comparison of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral, and guided tissue regeneration versus platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: a reentry study. J Periodontol 2002;73:198-205.
18. Velich N, Nemeth Z, Hrabak K, Suba Z, Szabo G. Repair of bony defect with combination biomaterials. The Journal of craniofacial surgery 2004;15:11-15.
19. Froum SJ, Wallace SS, Tarnow DP, Cho SC. Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports. The International journal of periodontics & restorative dentistry 2002;22:45-53.
20. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. J Oral Maxillofac Surg 2004;62:489-496.
21. Arora NS, Ramanayake T, Ren YF, Romanos GE. Platelet-rich plasma: a literature review. Implant dentistry 2009;18:303-310.
22. Kostenuik PJ, Shalhoub V. Osteoprotegerin: a physiological and pharmacological inhibitor of bone resorption. Curr Pharm Des 2001;7:613-635.
23. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. Nature 2003;423:337-342.

24. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis research & therapy* 2007;9 Suppl 1:S1.
25. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CRet al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997;89:309-319.
26. Zhao L, Zhou Y, Xu Y, Sun Y, Li L, Chen W. Effect of non-surgical periodontal therapy on the levels of Th17/Th1/Th2 cytokines and their transcription factors in Chinese chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2011;38:509-516.
27. Veldhoen M, Stockinger B. TGFbeta1, a "Jack of all trades": the link with pro-inflammatory IL-17-producing T cells. *Trends in immunology* 2006;27:358-361.
28. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1-6.
29. Bartold PM, McCulloch CA, Narayanan AS, Pitaru S. Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontol 2000* 2000;24:253-269.
30. Paper P. Treatment of Gingivitis and Periodontitis *J Periodontal* 1997;68:1246-1253.
31. Schroeder HE, Lindhe J. Conversion of stable established gingivitis in the dog into destructive periodontitis. *Archives of oral biology* 1975;20:775-782.
32. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental Gingivitis in Man. *J Periodontol* 1965;36:177-187.
33. Miyasaki KT. The neutrophil: mechanisms of controlling periodontal bacteria. *J Periodontol* 1991;62:761-774.
34. Harper DS, Lamster IB, Celenti R. Relationship of subgingival plaque flora to lysosomal and cytoplasmic enzyme activity in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1989;16:164-169.
35. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000* 1997;14:216-248.

36. Williams RC, Offenbacher S. Periodontal medicine: the emergence of a new branch of periodontology. *Periodontol 2000* 2000;23:9-12.
37. Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 2004;343:1-16.
38. Lamster IB. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Ann Periodontol* 1997;2:123-137.
39. Curtis MA, Gillett IR, Griffiths GSet al. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases: laboratory markers from analysis of gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1989;16:1-11.
40. Kido J, Nakamura T, Kido Ret al. Calprotectin in gingival crevicular fluid correlates with clinical and biochemical markers of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1999;26:653-657.
41. Ebersole JL. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontol 2000* 2003;31:135-166.
42. Pollanen MT, Salonen JI, Uitto VJ. Structure and function of the tooth-epithelial interface in health and disease. *Periodontol 2000* 2003;31:12-31.
43. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontol 2000* 2003;31:43-54.
44. Cimasoni G. Crevicular fluid updated. *Monographs in oral science* 1983;12:III-VII, 1-152.
45. Pippin DJ, Cobb CM, Feil P. Increased intracellular levels of lysosomal beta-glucuronidase in peripheral blood PMNs from humans with rapidly progressive periodontitis. *J Periodontal Res* 1995;30:42-50.
46. Lamster IB, Hartley LJ, Vogel RI. Development of a biochemical profile for gingival crevicular fluid. Methodological considerations and evaluation of collagen-degrading and ground substance-degrading enzyme activity during experimental gingivitis. *J Periodontol* 1985;56:13-21.
47. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol 2000* 2003;31:32-42.

48. Greenstein G. The role of bleeding upon probing in the diagnosis of periodontal disease. A literature review. *J Periodontol* 1984;55:684-688.
49. Galbraith GM, Hagan C, Steed RB, Sanders JJ, Javed T. Cytokine production by oral and peripheral blood neutrophils in adult periodontitis. *J Periodontol* 1997;68:832-838.
50. Lamster IB, Grbic JT. Diagnosis of periodontal disease based on analysis of the host response. *Periodontol 2000* 1995;7:83-99.
51. Curtis MA, Griffiths GS, Price SJ, Coulthurst SK, Johnson NW. The total protein concentration of gingival crevicular fluid. Variation with sampling time and gingival inflammation. *J Clin Periodontol* 1988;15:628-632.
52. Lamster IB, Oshrain RL, Celenti RS, Fine JB, Grbic JT. Indicators of the acute inflammatory and humoral immune responses in gingival crevicular fluid: relationship to active periodontal disease. *J Periodontal Res* 1991;26:261-263.
53. Uitto VJ. Gingival crevice fluid--an introduction. *Periodontol 2000* 2003;31:9-11.
54. Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000* 2003;31:55-76.
55. Hughes FJ. Cytokines and cell signalling in the periodontium. *Oral diseases* 1995;1:259-265.
56. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998;9:248-266.
57. Moscatelli D, Presta M, Joseph-Silverstein J, Rifkin DB. Both normal and tumor cells produce basic fibroblast growth factor. *Journal of cellular physiology* 1986;129:273-276.
58. Emingil G. Periodontal Hastalıkların Patogenezi. Ankara Hacettepe Üniversitesi, 2010.
59. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol* 2003;74:391-401.

60. Schierano G, Pejrone G, Brusco Pet al. TNF-alpha TGF-beta2 and IL-1beta levels in gingival and peri-implant crevicular fluid before and after de novo plaque accumulation. *J Clin Periodontol* 2008;35:532-538.
61. Salvi GE, Aglietta M, Eick S, Sculean A, Lang NP, Ramseier CA. Reversibility of experimental peri-implant mucositis compared with experimental gingivitis in humans. *Clin Oral Implants Res* 2012;23:182-190.
62. Gonzales JR, Herrmann JM, Boedeker RH, Francz PI, Biesalski H, Meyle J. Concentration of interleukin-1beta and neutrophil elastase activity in gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *J Clin Periodontol* 2001;28:544-549.
63. Offenbacher S, Barros S, Mendoza Let al. Changes in gingival crevicular fluid inflammatory mediator levels during the induction and resolution of experimental gingivitis in humans. *J Clin Periodontol* 2010;37:324-333.
64. Preiss DS, Meyle J. Interleukin-1 beta concentration of gingival crevicular fluid. *J Periodontol* 1994;65:423-428.
65. Tsai CC, Ho YP, Chen CC. Levels of interleukin-1 beta and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J Periodontol* 1995;66:852-859.
66. Rasmussen L, Hanstrom L, Lerner UH. Characterization of bone resorbing activity in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000;27:41-52.
67. Teles R, Sakellari D, Teles Fet al. Relationships among gingival crevicular fluid biomarkers, clinical parameters of periodontal disease, and the subgingival microbiota. *J Periodontol* 2010;81:89-98.
68. Mogi M, Otogoto J, Ota N, Inagaki H, Minami M, Kojima K. Interleukin 1 beta, interleukin 6, beta 2-microglobulin, and transforming growth factor-alpha in gingival crevicular fluid from human periodontal disease. *Archives of oral biology* 1999;44:535-539.
69. Thunell DH, Tymkiw KD, Johnson GK et al. A multiplex immunoassay demonstrates reductions in gingival crevicular fluid cytokines following initial periodontal therapy. *J Periodontal Res* 2010;45:148-152.

70. Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. Levels of interleukin-1 beta, -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *J Periodontol* 2000;71:1535-1545.
71. Engebretson SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB. GCF IL-1beta profiles in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2002;29:48-53.
72. Reinhardt RA, Masada MP, Johnson GK, DuBois LM, Seymour GJ, Allison AC. IL-1 in gingival crevicular fluid following closed root planing and papillary flap debridement. *J Clin Periodontol* 1993;20:514-519.
73. Yucel OO, Berker E, Gariboglu S, Otlı H. Interleukin-11, interleukin-1beta, interleukin-12 and the pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 2008;35:365-370.
74. Figueredo CM, Ribeiro MS, Fischer RG, Gustafsson A. Increased interleukin-1beta concentration in gingival crevicular fluid as a characteristic of periodontitis. *J Periodontol* 1999;70:1457-1463.
75. Faizuddin M, Bharathi SH, Rohini NV. Estimation of interleukin-1beta levels in the gingival crevicular fluid in health and in inflammatory periodontal disease. *J Periodontal Res* 2003;38:111-114.
76. Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral microbiology and immunology* 2006;21:256-260.
77. Becerik S, Ozturk VO, Atmaca H, Atilla G, Emingil G. Gingival crevicular fluid and plasma acute-phase cytokine levels in different periodontal diseases. *J Periodontol* 2012;83:1304-1313.
78. Aggarwal S, Gurney AL. IL-17: prototype member of an emerging cytokine family. *Journal of leukocyte biology* 2002;71:1-8.
79. Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annual review of immunology* 2007;25:821-852.
80. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annual review of immunology* 2009;27:485-517.

81. Liang SC, Tan XY, Luxenberg DP et al. Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides. *The Journal of experimental medicine* 2006;203:2271-2279.
82. Takahashi K, Azuma T, Motohira H, Kinane DF, Kitetsu S. The potential role of interleukin-17 in the immunopathology of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2005;32:369-374.
83. Yu JJ, Ruddy MJ, Wong GC et al. An essential role for IL-17 in preventing pathogen-initiated bone destruction: recruitment of neutrophils to inflamed bone requires IL-17 receptor-dependent signals. *Blood* 2007;109:3794-3802.
84. Nakajima T, Ueki-Maruyama K, Oda T et al. Regulatory T-cells infiltrate periodontal disease tissues. *J Dent Res* 2005;84:639-643.
85. Vernal R, Dutzan N, Chaparro A, Puente J, Antonieta Valenzuela M, Gamonal J. Levels of interleukin-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of cellular cultures of gingival tissue from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005;32:383-389.
86. Arron JR, Choi Y. Bone versus immune system. *Nature* 2000;408:535-536.
87. Bar-Shavit Z. The osteoclast: a multinucleated, hematopoietic-origin, bone-resorbing osteoimmune cell. *J Cell Biochem* 2007;102:1130-1139.
88. Ishihara Y, Nishihara T, Kuroyanagi T et al. Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. *J Periodontal Res* 1997;32:524-529.
89. Schenkein HA, Gunsolley JC, Best AM et al. Antiphosphorylcholine antibody levels are elevated in humans with periodontal diseases. *Infect Immun* 1999;67:4814-4818.
90. Bickel M, Axtelius B, Solioz C, Attstrom R. Cytokine gene expression in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001;28:840-847.

91. Tsuda E, Goto M, Mochizuki Set al. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;234:137-142.
92. Lacey DL, Timms E, Tan HLet al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998;93:165-176.
93. Yasuda H, Shima N, Nakagawa Net al. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology* 1998;139:1329-1337.
94. Blair JM, Zheng Y, Dunstan CR. RANK ligand. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:1077-1081.
95. Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, Fortun Y, Redini F, Heymann D. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004;15:457-475.
96. Blair JM, Zhou H, Seibel MJ, Dunstan CR. Mechanisms of disease: roles of OPG, RANKL and RANK in the pathophysiology of skeletal metastasis. *Nat Clin Pract Oncol* 2006;3:41-49.
97. Rogers A, Eastell R. Circulating osteoprotegerin and receptor activator for nuclear factor kappaB ligand: clinical utility in metabolic bone disease assessment. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:6323-6331.
98. Kiechl S, Werner P, Knoflach M, Furtner M, Willeit J, Schett G. The osteoprotegerin/RANK/RANKL system: a bone key to vascular disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2006;4:801-811.
99. Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* 2001;142:5050-5055.
100. Yasuda H, Shima N, Nakagawa Net al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:3597-3602.
101. Kong YY, Yoshida H, Sarosi let al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999;397:315-323.

102. Bucay N, Sarosi I, Dunstan C, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998;12:1260-1268.
103. Yun TJ, Tallquist MD, Aicher A, et al. Osteoprotegerin, a crucial regulator of bone metabolism, also regulates B cell development and function. *J Immunol* 2001;166:1482-1491.
104. Min H, Morony S, Sarosi I, et al. Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J Exp Med* 2000;192:463-474.
105. Wong BR, Josien R, Lee S, et al. TRANCE (tumor necrosis factor [TNF]-related activation-induced cytokine), a new TNF family member predominantly expressed in T cells, is a dendritic cell-specific survival factor. *J Exp Med* 1997;186:2075-2080.
106. Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley W, et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 1997;390:175-179.
107. Wong BR, Josien R, Lee SY, Vologodskaya M, Steinman RM, Choi Y. The TRAF family of signal transducers mediates NF-kappaB activation by the TRANCE receptor. *J Biol Chem* 1998;273:28355-28359.
108. Kong YY, Feige U, Sarosi I, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999;402:304-309.
109. Fata JE, Kong YY, Li J, et al. The osteoclast differentiation factor osteoprotegerin-ligand is essential for mammary gland development. *Cell* 2000;103:41-50.
110. Darnay BG, Haridas V, Ni J, Moore PA, Aggarwal BB. Characterization of the intracellular domain of receptor activator of NF-kappaB (RANK). Interaction with tumor necrosis factor receptor-associated factors and activation of NF-kappaB and c-Jun N-terminal kinase. *J Biol Chem* 1998;273:20551-20555.
111. Burgess TL, Qian Y, Kaufman S, et al. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol* 1999;145:527-538.

112. Wittrant Y, Theoleyre S, Couillaud S, Dunstan C, Heymann D, Redini F. Relevance of an in vitro osteoclastogenesis system to study receptor activator of NF- κ B ligand and osteoprotegerin biological activities. *Exp Cell Res* 2004;293:292-301.
113. Wittrant Y, Theoleyre S, Couillaud S, Dunstan C, Heymann D, Redini F. Regulation of osteoclast protease expression by RANKL. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;310:774-778.
114. Theoleyre S, Wittrant Y, Couillaud S et al. Cellular activity and signaling induced by osteoprotegerin in osteoclasts: involvement of receptor activator of nuclear factor κ B ligand and MAPK. *Biochim Biophys Acta* 2004;1644:1-7.
115. Baud'huin M, Lamoureux F, Duplomb L, Redini F, Heymann D. RANKL, RANK, osteoprotegerin: key partners of osteoimmunology and vascular diseases. *Cell Mol Life Sci* 2007;64:2334-2350.
116. Ikeda T, Kasai M, Utsuyama M, Hirokawa K. Determination of three isoforms of the receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and their differential expression in bone and thymus. *Endocrinology* 2001;142:1419-1426.
117. Suzuki J, Ikeda T, Kuroyama H et al. Regulation of osteoclastogenesis by three human RANKL isoforms expressed in NIH3T3 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;314:1021-1027.
118. Nakagawa N, Kinoshita M, Yamaguchi K et al. RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;253:395-400.
119. Iwamoto K, Miyamoto T, Sawatani Y et al. Dimer formation of receptor activator of nuclear factor κ B induces incomplete osteoclast formation. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;325:229-234.
120. Holen I, Shipman CM. Role of osteoprotegerin (OPG) in cancer. *Clin Sci (Lond)* 2006;110:279-291.
121. Wittrant Y, Theoleyre S, Chipoy C et al. RANKL/RANK/OPG: new therapeutic targets in bone tumours and associated osteolysis. *Biochim Biophys Acta* 2004;1704:49-57.

122. Dougall WC, Chaisson M. The RANK/RANKL/OPG triad in cancer-induced bone diseases. *Cancer Metastasis Rev* 2006;25:541-549.
123. Brown JM, Vessella RL, Kostenuik PJ, Dunstan CR, Lange PH, Corey E. Serum osteoprotegerin levels are increased in patients with advanced prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7:2977-2983.
124. Grimaud E, Soubigou L, Couillaud Set al. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL)/osteoprotegerin (OPG) ratio is increased in severe osteolysis. *Am J Pathol* 2003;163:2021-2031.
125. Giuliani N, Bataille R, Mancini C, Lazzaretti M, Barille S. Myeloma cells induce imbalance in the osteoprotegerin/osteoprotegerin ligand system in the human bone marrow environment. *Blood* 2001;98:3527-3533.
126. Voskaridou E, Terpos E. Osteoprotegerin to soluble receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand ratio is reduced in patients with thalassaemia-related osteoporosis who receive vitamin D3. *Eur J Haematol* 2005;74:359-361.
127. D'Amore M, Fanelli M, D'Amore S, Fontana A, Minenna G. Receptor activator of NF(Kappa)B ligand/osteoprotegerin (RANKL/OPG) system and osteopontin (OPN) serum levels in a population of apulian postmenopausal women. *Panminerva Med* 2006;48:215-221.
128. Kim HR, Kim HY, Lee SH. Elevated serum levels of soluble receptor activator of nuclear factors-kappaB ligand (sRANKL) and reduced bone mineral density in patients with ankylosing spondylitis (AS). *Rheumatology (Oxford)* 2006;45:1197-1200.
129. Vanderborght A, Linsen L, Thewissen M, Geusens P, Raus J, Stinissen P. Osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand mRNA expression in patients with rheumatoid arthritis and healthy controls. *J Rheumatol* 2004;31:1483-1490.
130. Veigl D, Niederlova J, Krystufkova O. Periprosthetic osteolysis and its association with RANKL expression. *Physiol Res* 2007;56:455-462.
131. Granchi D, Pellacani A, Spina Met al. Serum levels of osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor-kappaB

ligand as markers of periprosthetic osteolysis. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88:1501-1509.

132. Li J, Sarosi I, Yan XQ et al. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:1566-1571.
133. Walsh MC, Kim N, Kadono Y et al. Osteoimmunology: interplay between the immune system and bone metabolism. *Annu Rev Immunol* 2006;24:33-63.
134. Lee SK, Lorenzo J. Cytokines regulating osteoclast formation and function. *Curr Opin Rheumatol* 2006;18:411-418.
135. Kawai T, Matsuyama T, Hosokawa Y et al. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am J Pathol* 2006;169:987-998.
136. Schett G, Hayer S, Zwerina J, Redlich K, Smolen JS. Mechanisms of Disease: the link between RANKL and arthritic bone disease. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2005;1:47-54.
137. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol* 2000 1997;14:9-11.
138. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol* 1996;1:821-878.
139. Taubman MA, Kawai T, Han X. The new concept of periodontal disease pathogenesis requires new and novel therapeutic strategies. *J Clin Periodontol* 2007;34:367-369.
140. Garlet GP, Cardoso CR, Silva TA et al. Cytokine pattern determines the progression of experimental periodontal disease induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* through the modulation of MMPs, RANKL, and their physiological inhibitors. *Oral Microbiol Immunol* 2006;21:12-20.
141. Lerner UH. Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res* 2006;85:596-607.
142. Vernal R, Dutzan N, Hernandez M et al. High expression levels of receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand associated with

human chronic periodontitis are mainly secreted by CD4+ T lymphocytes. *J Periodontol* 2006;77:1772-1780.

143. Han X, Kawai T, Eastcott JW, Taubman MA. Bacterial-responsive B lymphocytes induce periodontal bone resorption. *J Immunol* 2006;176:625-631.
144. Saidenberg-Kermanac'h N, Cohen-Solal M, Bessis N, De Vernejoul MC, Boissier MC. Role for osteoprotegerin in rheumatoid inflammation. *Joint Bone Spine* 2004;71:9-13.
145. Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki Set al. Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;275:768-775.
146. Wara-aswapati N, Surarit R, Chayasadom A, Boch JA, Pitiphat W. RANKL upregulation associated with periodontitis and *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol* 2007;78:1062-1069.
147. Crotti T, Smith MD, Hirsch Ret al. Receptor activator NF kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodontal Res* 2003;38:380-387.
148. Mogi M, Otogoto J, Ota N, Togari A. Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J Dent Res* 2004;83:166-169.
149. Bostanci N, Ilgenli T, Emingil Get al. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol* 2007;34:370-376.
150. Lu HK, Chen YL, Chang HC, Li CL, Kuo MY. Identification of the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand system in gingival crevicular fluid and tissue of patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res* 2006;41:354-360.
151. Bostanci N, Ilgenli T, Emingil Get al. Differential expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin mRNA in periodontal diseases. *J Periodontal Res* 2007;42:287-293.
152. Liu D, Xu JK, Figliomeni Let al. Expression of RANKL and OPG mRNA in periodontal disease: possible involvement in bone destruction. *Int J Mol Med* 2003;11:17-21.

153. Jin Q, Cirelli JA, Park CHet al. RANKL inhibition through osteoprotegerin blocks bone loss in experimental periodontitis. *J Periodontol* 2007;78:1300-1308.
154. Kawai T, Paster BJ, Komatsuzawa Het al. Cross-reactive adaptive immune response to oral commensal bacteria results in an induction of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL)-dependent periodontal bone resorption in a mouse model. *Oral Microbiol Immunol* 2007;22:208-215.
155. Rogers JE, Li F, Coatney DDet al. A p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor arrests active alveolar bone loss in a rat periodontitis model. *J Periodontol* 2007;78:1992-1998.
156. Papapanou PN, Tonetti MS. Diagnosis and epidemiology of periodontal osseous lesions. *Periodontol 2000* 2000;22:8-21.
157. Tal H. Relationship between the interproximal distance of roots and the prevalence of intrabony pockets. *J Periodontol* 1984;55:604-607.
158. Papapanou PN, Wennstrom JL. The angular bony defect as indicator of further alveolar bone loss. *J Clin Periodontol* 1991;18:317-322.
159. Pepelassi EA, Tsiklakis K, Diamanti-Kipioti A. Radiographic detection and assessment of the periodontal endosseous defects. *J Clin Periodontol* 2000;27:224-230.
160. Glickman I, Smulow JB. Effect of Excessive Occlusal Forces Upon the Pathway of Gingival Inflammation in Humans. *J Periodontol* 1965;36:141-147.
161. Waerhaug J. The infrabony pocket and its relationship to trauma from occlusion and subgingival plaque. *J Periodontol* 1979;50:355-365.
162. Waerhaug J. The angular bone defect and its relationship to trauma from occlusion and downgrowth of subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1979;6:61-82.
163. Greenberg J, Laster L, Listgarten MA. Transgingival probing as a potential estimator of alveolar bone level. *J Periodontol* 1976;47:514-517.

164. Papapanou PN, Wennstrom JL. Radiographic and clinical assessments of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1989;16:609-612.
165. Eickholz P, Riess T, Lenhard M, Hassfeld S, Staehle HJ. Digital radiography of interproximal bone loss; validity of different filters. *J Clin Periodontol* 1999;26:294-300.
166. Papapanou PN, Wennstrom JL, Grondahl K. Periodontal status in relation to age and tooth type. A cross-sectional radiographic study. *J Clin Periodontol* 1988;15:469-478.
167. Papapanou PN, Wennstrom JL. A 10-year retrospective study of periodontal disease progression. Clinical characteristics of subjects with pronounced and minimal disease development. *J Clin Periodontol* 1990;17:78-84.
168. Persson RE, Hollender LG, Persson GR. Assessment of alveolar bone levels from intraoral radiographs in subjects between ages 15 and 94 years seeking dental care. *J Clin Periodontol* 1998;25:647-654.
169. Vrotsos JA, Parashis AO, Theofanatos GD, Smulow JB. Prevalence and distribution of bone defects in moderate and advanced adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 1999;26:44-48.
170. Wouters FR, Salonen LE, Hellden LB, Frithiof L. Prevalence of interproximal periodontal intrabony defects in an adult population in Sweden. A radiographic study. *J Clin Periodontol* 1989;16:144-149.
171. Lang NP. Focus on intrabony defects--conservative therapy. *Periodontol* 2000 2000;22:51-58.
172. Hammerle CH, Joss A, Lang NP. Short-term effects of initial periodontal therapy (hygienic phase). *J Clin Periodontol* 1991;18:233-239.
173. Rabbani GM, Ash MM, Jr., Caffesse RG. The effectiveness of subgingival scaling and root planing in calculus removal. *J Periodontol* 1981;52:119-123.
174. Ochsenbein C. Current status of osseous surgery. *J Periodontol* 1977;48:577-586.
175. Ochsenbein C. A primer for osseous surgery. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* 1986;6:8-47.

176. Schluger S. Osseous resection; a basic principle in periodontal surgery. Oral surgery, oral medicine, and oral pathology 1949;2:316-325.
177. Tonetti MS, Pini-Prato G, Cortellini P. Periodontal regeneration of human intrabony defects. IV. Determinants of healing response. J Periodontol 1993;64:934-940.
178. Falk H, Laurell L, Ravald N, Teiwik A, Persson R. Guided tissue regeneration therapy of 203 consecutively treated intrabony defects using a bioabsorbable matrix barrier. Clinical and radiographic findings. J Periodontol 1997;68:571-581.
179. Egelberg J. Regeneration and repair of periodontal tissues. J Periodontal Res 1987;22:233-242.
180. Isidor F, Attstrom R, Karring T. Regeneration of alveolar bone following surgical and non-surgical periodontal treatment. J Clin Periodontol 1985;12:687-696.
181. Nyman S, Gottlow J, Lindhe J, Karring T, Wennstrom J. New attachment formation by guided tissue regeneration. J Periodontal Res 1987;22:252-254.
182. Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J. The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. J Clin Periodontol 1982;9:257-265.
183. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. J Periodontol 1976;47:256-260.
184. Nyman S, Karring T. Regeneration of surgically removed buccal alveolar bone in dogs. J Periodontal Res 1979;14:86-92.
185. Karring T, Nyman S, Lindhe J, Sirirat M. Potentials for root resorption during periodontal wound healing. J Clin Periodontol 1984;11:41-52.
186. Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. J Clin Periodontol 1982;9:290-296.
187. Gottlow J, Nyman S, Lindhe J, Karring T, Wennstrom J. New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. J Clin Periodontol 1986;13:604-616.

188. McCulloch CA. Tony Melcher's contributions to the regeneration of the periodontium. *J Dent Res* 1999;78:1292-1297.
189. Nyman S. Bone regeneration using the principle of guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 1991;18:494-498.
190. Wolff LF, Mullally B. New clinical materials and techniques in guided tissue regeneration. *International dental journal* 2000;50:235-244.
191. American Academy of Periodontology: Glossary of Periodontal Terms. 3rd ed. Chicago.(1992)
192. Lindhe J. Textbook of Clinical Periodontology. Copenhagen: Munksgaard, 1989.
193. Nasr HF, Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone and bone substitutes. *Periodontol 2000* 1999;19:74-86.
194. Bauer TW, Togawa D. Bone graft substitutes: towards a more perfect union. *Orthopedics* 2003;26:925-926.
195. Hiatt WH, Schallhorn RG. Intraoral transplants of cancellous bone and marrow in periodontal lesions. *J Periodontol* 1973;44:194-208.
196. Froum SJ, Ortiz M, Witkin RT, Thaler R, Scopp IW, Stahl SS. Osseous autografts. III. Comparison of osseous coagulum-bone blend implants with open curetage. *J Periodontol* 1976;47:287-294.
197. Rosenberg MM. Free osseous tissue autografts as a predictable procedure. *J Periodontol* 1971;42:195-209.
198. Diem CR, Bowers GM, Moffitt WC. Bone blending: a technique for osseous implants. *J Periodontol* 1972;43:295-297.
199. Dragoo MR, Sullivan HC. A clinical and histological evaluation of autogenous iliac bone grafts in humans. II. External root resorption. *J Periodontol* 1973;44:614-625.
200. Dragoo MR, Sullivan HC. A clinical and histological evaluation of autogenous iliac bone grafts in humans. I. Wound healing 2 to 8 months. *J Periodontol* 1973;44:599-613.
201. Hiatt WH, Schallhorn RG, Aaronian AJ. The induction of new bone and cementum formation. IV. Microscopic examination of the

periodontium following human bone and marrow allograft, autograft and nongraft periodontal regenerative procedures. J Periodontol 1978;49:495-512.

202. Listgarten MA, Rosenberg MM. Histological study of repair following new attachment procedures in human periodontal lesions. J Periodontol 1979;50:333-344.
203. Stassen LF, Hislop WS, Still DM, Moos KF. Use of anorganic bone in periapical defects following apical surgery--a prospective trial. The British journal of oral & maxillofacial surgery 1994;32:83-85.
204. Pinholt EM, Bang G, Haanaes HR. Alveolar ridge augmentation in rats by Bio-Oss. Scandinavian journal of dental research 1991;99:154-161.
205. Nielsen IM, Glavind L, Karring T. Interproximal periodontal intrabony defects. Prevalence, localization and etiological factors. J Clin Periodontol 1980;7:187-198.
206. Nielsen IM, Ellegaard B, Karring T. Kielbone in healing interradicular lesions in monkeys. J Periodontal Res 1980;15:328-337.
207. Kasabah S, Simunek A, Krug J, Lecaro MC. Maxillary sinus augmentation with deproteinized bovine bone (Bio-Oss) and Impladent dental implant system. Part II. Evaluation of deprotienized bovine bone (Bio-Oss) and implant surface. Acta Medica (Hradec Kralove) 2002;45:167-171.
208. Kasabah S, Simunek A, Krug J, Cevallos Lecaro M. Maxillary sinus augmentation using deproteinized bovine bone (Bio-Oss) and Impladent Dental Implant System. Part I. Comparison between one-stage and two-stage procedure. Acta Medica (Hradec Kralove) 2002;45:115-118.
209. Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone replacement grafts. The bone substitutes. Dent Clin North Am 1998;42:491-503.
210. Hurzeler MB, Kohal RJ, Naghshbandi Jet al. Evaluation of a new bioresorbable barrier to facilitate guided bone regeneration around exposed implant threads. An experimental study in the monkey. International journal of oral and maxillofacial surgery 1998;27:315-320.

211. Merckx MA, Maltha JC, Freihofer HP, Kuijpers-Jagtman AM. Incorporation of three types of bone block implants in the facial skeleton. *Biomaterials* 1999;20:639-645.
212. Stephan EB, Jiang D, Lynch S, Bush P, Dziak R. Anorganic bovine bone supports osteoblastic cell attachment and proliferation. *J Periodontol* 1999;70:364-369.
213. Benke D, Olah A, Mohler H. Protein-chemical analysis of Bio-Oss bone substitute and evidence on its carbonate content. *Biomaterials* 2001;22:1005-1012.
214. Piattelli A, Degidi M, Di Stefano DA, Rubini C, Fioroni M, Strocchi R. Microvessel density in alveolar ridge regeneration with autologous and alloplastic bone. *Implant dentistry* 2002;11:370-375.
215. Carmagnola D, Berglundh T, Lindhe J. The effect of a fibrin glue on the integration of Bio-Oss with bone tissue. A experimental study in labrador dogs. *J Clin Periodontol* 2002;29:377-383.
216. Camelo M, Nevins ML, Schenk RK et al. Clinical, radiographic, and histologic evaluation of human periodontal defects treated with Bio-Oss and Bio-Gide. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* 1998;18:321-331.
217. Clergeau LP, Danan M, Clergeau-Guerithault S, Brion M. Healing response to anorganic bone implantation in periodontal intrabony defects in dogs. Part I. Bone regeneration. A microradiographic study. *J Periodontol* 1996;67:140-149.
218. Ong MM, Eber RM, Korsnes M et al. Evaluation of a bioactive glass alloplast in treating periodontal intrabony defects. *J Periodontol* 1998;69:1346-1354.
219. Froum SJ, Weinberg MA, Tarnow D. Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles and open debridement in the treatment of human periodontal defects. A clinical study. *J Periodontol* 1998;69:698-709.
220. Anderegg CR, Alexander DC, Freidman M. A bioactive glass particulate in the treatment of molar furcation invasions. *J Periodontol* 1999;70:384-387.
221. Lovelace TB, Mellonig JT, Meffert RM, Jones AA, Nummikoski PV, Cochran DL. Clinical evaluation of bioactive glass in the treatment

of periodontal osseous defects in humans. J Periodontol 1998;69:1027-1035.

222. Yukna RA, Callan DP, Krauser JT et al. Multi-center clinical evaluation of combination anorganic bovine-derived hydroxyapatite matrix (ABM)/cell binding peptide (P-15) as a bone replacement graft material in human periodontal osseous defects. 6-month results. J Periodontol 1998;69:655-663.
223. Caton J, Nyman S. Histometric evaluation of periodontal surgery. I. The modified Widman flap procedure. J Clin Periodontol 1980;7:212-223.
224. Caton J, Nyman S, Zander H. Histometric evaluation of periodontal surgery. II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. J Clin Periodontol 1980;7:224-231.
225. Nyman S, Karring T, Lindhe J, Planten S. Healing following implantation of periodontitis-affected roots into gingival connective tissue. J Clin Periodontol 1980;7:394-401.
226. Nyman S, Lindhe J, Karring T. Healing following surgical treatment and root demineralization in monkeys with periodontal disease. J Clin Periodontol 1981;8:249-258.
227. Magnusson I, Nyman S, Karring T, Egelberg J. Connective tissue attachment formation following exclusion of gingival connective tissue and epithelium during healing. J Periodontal Res 1985;20:201-208.
228. Aukhil I, Simpson DM, Suggs C, Pettersson E. In vivo differentiation of progenitor cells of the periodontal ligament. An experimental study using physical barriers. J Clin Periodontol 1986;13:862-868.
229. Salama H, Rigotti F, Gianserra R, Seibert J. The utilization of rubber dam as a barrier membrane for the simultaneous treatment of multiple periodontal defects by the biologic principle of guided tissue regeneration: case reports. The International journal of periodontics & restorative dentistry 1994;14:16-33.
230. Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J. New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. J Clin Periodontol 1984;11:494-503.

231. Cortellini P, Pini Prato G, Tonetti MS. Periodontal regeneration of human intrabony defects with titanium reinforced membranes. A controlled clinical trial. *J Periodontol* 1995;66:797-803.
232. Aukhil I, Iglhaut J. Periodontal ligament cell kinetics following experimental regenerative procedures. *J Clin Periodontol* 1988;15:374-382.
233. Pontoriero R, Lindhe J. Guided tissue regeneration in the treatment of degree III furcation defects in maxillary molars. *J Clin Periodontol* 1995;22:810-812.
234. Wallace SC, Gellin RG, Miller MC, Mishkin DJ. Guided tissue regeneration with and without decalcified freeze-dried bone in mandibular Class II furcation invasions. *J Periodontol* 1994;65:244-254.
235. Rosso F, Giordano A, Barbarisi M, Barbarisi A. From cell-ECM interactions to tissue engineering. *Journal of cellular physiology* 2004;199:174-180.
236. Nerem RM, Sambanis A. Tissue engineering: from biology to biological substitutes. *Tissue engineering* 1995;1:3-13.
237. Bartold PM, Xiao Y, Lyngstaadas SP, Paine ML, Snead ML. Principles and applications of cell delivery systems for periodontal regeneration. *Periodontol* 2000 2006;41:123-135.
238. Cochran DL, Wozney JM. Biological mediators for periodontal regeneration. *Periodontol* 2000 1999;19:40-58.
239. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant dentistry* 2001;10:225-228.
240. Freymiller EG. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62:1046; author reply 1047-1048.
241. Wrotniak M, Bielecki T, Gazdzik TS. Current opinion about using the platelet-rich gel in orthopaedics and trauma surgery. *Ortopedia, traumatologia, rehabilitacja* 2007;9:227-238.
242. Roberts AB, Sporn MB. Physiological actions and clinical applications of transforming growth factor-beta (TGF-beta). *Growth Factors* 1993;8:1-9.

243. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85:638-646.
244. Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Madzarevic M, Kenney EB. Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodontal Res* 2002;37:300-306.
245. Martinez-Gonzalez JM, Cano-Sanchez J, Gonzalo-Lafuente JC, Campo-Trapero J, Esparza-Gomez G, Seoane J. Do ambulatory-use Platelet-Rich Plasma (PRP) concentrates present risks? *Med Oral* 2002;7:375-390.
246. Babbush CA, Kevy SV, Jacobson MS. An in vitro and in vivo evaluation of autologous platelet concentrate in oral reconstruction. *Implant dentistry* 2003;12:24-34.
247. Grageda E. Platelet-rich plasma and bone graft materials: a review and a standardized research protocol. *Implant dentistry* 2004;13:301-309.
248. Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *The New England journal of medicine* 2007;357:2482-2494.
249. Folkman J. Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery? *Nature reviews. Drug discovery* 2007;6:273-286.
250. Pinedo HM, Verheul HM, D'Amato RJ, Folkman J. Involvement of platelets in tumour angiogenesis? *Lancet* 1998;352:1775-1777.
251. Floege J, Eitner F, Alpers CE. A new look at platelet-derived growth factor in renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2008;19:12-23.
252. May AE, Seizer P, Gawaz M. Platelets: inflammatory firebugs of vascular walls. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2008;28:p5-10.
253. Rozman P, Bolta Z. Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries. *Acta dermatovenerologica Alpina, Panonica, et Adriatica* 2007;16:156-165.
254. Weibrich G, Kleis WK. Curasan PRP kit vs. PCCS PRP system. Collection efficiency and platelet counts of two different methods for

the preparation of platelet-rich plasma. Clin Oral Implants Res 2002;13:437-443.

255. Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. J Oral Maxillofac Surg 2000;58:297-300; discussion 300-291.
256. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G. Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system. The International journal of oral & maxillofacial implants 2002;17:184-190.
257. Klongnoi B, Rupprecht S, Kessler P, Thorwarth M, Wiltfang J, Schlegel KA. Influence of platelet-rich plasma on a bioglass and autogenous bone in sinus augmentation. An explorative study. Clin Oral Implants Res 2006;17:312-320.
258. Klongnoi B, Rupprecht S, Kessler Pet al. Lack of beneficial effects of platelet-rich plasma on sinus augmentation using a fluorohydroxyapatite or autogenous bone: an explorative study. J Clin Periodontol 2006;33:500-509.
259. Weibrich G, Kleis WK, Kunz-Kostomanolakis M, Loos AH, Wagner W. Correlation of platelet concentration in platelet-rich plasma to the extraction method, age, sex, and platelet count of the donor. The International journal of oral & maxillofacial implants 2001;16:693-699.
260. Kassolis JD, Reynolds MA. Evaluation of the adjunctive benefits of platelet-rich plasma in subantral sinus augmentation. The Journal of craniofacial surgery 2005;16:280-287.
261. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. J Periodontol 2000;71:1654-1661.
262. Lind M. Growth factor stimulation of bone healing. Effects on osteoblasts, osteomies, and implants fixation. Acta orthopaedica Scandinavica. Supplementum 1998;283:2-37.
263. Thorwarth M, Wehrhan F, Schultze-Mosgau S, Wiltfang J, Schlegel KA. PRP modulates expression of bone matrix proteins in vivo without long-term effects on bone formation. Bone 2006;38:30-40.

264. Marx RE. Clinical application of bone biology to mandibular and maxillary reconstruction. *Clinics in plastic surgery* 1994;21:377-392.
265. De Leonardis D, Pecora GE. Augmentation of the maxillary sinus with calcium sulfate: one-year clinical report from a prospective longitudinal study. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 1999;14:869-878.
266. De Leonardis D, Pecora GE. Prospective study on the augmentation of the maxillary sinus with calcium sulfate: histological results. *J Periodontol* 2000;71:940-947.
267. Piattelli M, Favero GA, Scarano A, Orsini G, Piattelli A. Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 1999;14:835-840.
268. Garg AK, Gargenese D, Peace I. Using platelet-rich plasma to develop an autologous membrane for growth factor delivery in dental implant therapy. *Dental implantology update* 2000;11:41-44.
269. Schlegel KA, Donath K, Rupprecht S et al. De novo bone formation using bovine collagen and platelet-rich plasma. *Biomaterials* 2004;25:5387-5393.
270. Thorwarth M, Rupprecht S, Falk S, Felszeghy E, Wiltfang J, Schlegel KA. Expression of bone matrix proteins during de novo bone formation using a bovine collagen and platelet-rich plasma (prp)--an immunohistochemical analysis. *Biomaterials* 2005;26:2575-2584.
271. Dori F, Nikolidakis D, Huszar T, Arweiler NB, Gera I, Sculean A. Effect of platelet-rich plasma on the healing of intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative and a natural bone mineral. *J Clin Periodontol* 2008;35:44-50.
272. Hanna R, Trejo PM, Weltman RL. Treatment of intrabony defects with bovine-derived xenograft alone and in combination with platelet-rich plasma: a randomized clinical trial. *J Periodontol* 2004;75:1668-1677.
273. Okuda K, Tai H, Tanabe K et al. Platelet-rich plasma combined with a porous hydroxyapatite graft for the treatment of intrabony periodontal defects in humans: a comparative controlled clinical study. *J Periodontol* 2005;76:890-898.

274. Ilgenli T, Dundar N, Kal BI. Demineralized freeze-dried bone allograft and platelet-rich plasma vs platelet-rich plasma alone in infrabony defects: a clinical and radiographic evaluation. *Clinical oral investigations* 2007;11:51-59.
275. Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. *J Oral Maxillofac Surg* 2002;60:1176-1181.
276. Demiralp B, Keceli HG, Muhtarogullar M, Serper A, Demiralp B, Eratalay K. Treatment of periapical inflammatory lesion with the combination of platelet-rich plasma and tricalcium phosphate: a case report. *Journal of endodontics* 2004;30:796-800.
277. Freymiller EG, Aghaloo TL. Platelet-rich plasma: ready or not? *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62:484-488.
278. Furst G, Gruber R, Tangl Set al. Sinus grafting with autogenous platelet-rich plasma and bovine hydroxyapatite. A histomorphometric study in minipigs. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:500-508.
279. Kim SG, Chung CH, Kim YK, Park JC, Lim SC. Use of particulate dentin-plaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 2002;17:86-94.
280. Kovacs K, Velich N, Huszar T, Fenyves B, Suba Z, Szabo G. Histomorphometric and densitometric evaluation of the effects of platelet-rich plasma on the remodeling of beta-tricalcium phosphate in beagle dogs. *The Journal of craniofacial surgery* 2005;16:150-154.
281. Wiltfang J, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Nkenke E, Zimmermann R, Kessler P. Sinus floor augmentation with beta-tricalciumphosphate (beta-TCP): does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation? *Clin Oral Implants Res* 2003;14:213-218.
282. Dori F, Huszar T, Nikolidakis D, Arweiler NB, Gera I, Sculean A. Effect of platelet-rich plasma on the healing of intrabony defects treated with an anorganic bovine bone mineral and expanded polytetrafluoroethylene membranes. *J Periodontol* 2007;78:983-990.

283. Yassibag-Berkman Z, Tuncer O, Subasioglu T, Kantarci A. Combined use of platelet-rich plasma and bone grafting with or without guided tissue regeneration in the treatment of anterior interproximal defects. *J Periodontol* 2007;78:801-809.
284. Petrungaro P. Platelet-rich plasma for dental implants and soft-tissue grafting. Interview by Arun K. Garg. *Dental implantology update* 2001;12:41-46.
285. Petrungaro PS. Using platelet-rich plasma to accelerate soft tissue maturation in esthetic periodontal surgery. *Compend Contin Educ Dent* 2001;22:729-732, 734, 736 passim; quiz 746.
286. Tischler M. Platelet rich plasma. The use of autologous growth factors to enhance bone and soft tissue grafts. *The New York state dental journal* 2002;68:22-24.
287. Caloprisco G, Borean A. Chronic skin ulcers: a regenerative simulation by topical hemotherapy. *The International journal of artificial organs* 2004;27:816-817.
288. Croveti G, Martinelli G, Issi Met al. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfus Apher Sci* 2004;30:145-151.
289. Ogino Y, Ayukawa Y, Tsukiyama Y, Koyano K. The effect of platelet-rich plasma on the cellular response of rat bone marrow cells in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005;100:302-307.
290. Jakse N, Tangl S, Gilli Ret al. Influence of PRP on autogenous sinus grafts. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:578-583.
291. Easley JR. Methods of determining alveolar osseous form. *J Periodontol* 1967;38:112-118.
292. Windisch P, Sculean A, Klein Fet al. Comparison of clinical, radiographic, and histometric measurements following treatment with guided tissue regeneration or enamel matrix proteins in human periodontal defects. *J Periodontol* 2002;73:409-417.
293. Gottlow J, Laurell L, Lundgren Det al. Periodontal tissue response to a new bioresorbable guided tissue regeneration device: a longitudinal study in monkeys. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* 1994;14:436-449.

294. Silness J, Loe H. Periodontal Disease in Pregnancy. II. Correlation between Oral Hygiene and Periodontal Condition. *Acta odontologica Scandinavica* 1964;22:121-135.
295. Loe H, Silness J. Periodontal Disease in Pregnancy. I. Prevalence and Severity. *Acta odontologica Scandinavica* 1963;21:533-551.
296. Muhlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding--a leading symptom in initial gingivitis. *Helvetica odontologica acta* 1971;15:107-113.
297. Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol* 1999;70:13-29.
298. Trombelli L. Which reconstructive procedures are effective for treating the periodontal intraosseous defect? *Periodontol* 2000 2005;37:88-105.
299. Gonshor A. Technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate: background and process. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* 2002;22:547-557.
300. Virchenko O, Aspenberg P. How can one platelet injection after tendon injury lead to a stronger tendon after 4 weeks? Interplay between early regeneration and mechanical stimulation. *Acta orthopaedica* 2006;77:806-812.
301. Rutherford RB, Ryan ME, Kennedy JE, Tucker MM, Charette MF. Platelet-derived growth factor and dexamethasone combined with a collagen matrix induce regeneration of the periodontium in monkeys. *J Clin Periodontol* 1993;20:537-544.
302. Garrett S. Periodontal regeneration around natural teeth. *Ann Periodontol* 1996;1:621-666.
303. Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME, Branch-Mays GL, Gunsolley JC. The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseous defects. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:227-265.
304. Novak N, Carranza, F. In: Newman M, ed. Carranza, F. Glickman's Clinical Periodontology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2002:507-512.

305. Dietrich T, Bernimoulin JP, Glynn RJ. The effect of cigarette smoking on gingival bleeding. *J Periodontol* 2004;75:16-22.
306. Feldman RS, Bravacos JS, Rose CL. Association between smoking different tobacco products and periodontal disease indexes. *J Periodontol* 1983;54:481-487.
307. Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. *J Clin Periodontol* 2001;28:283-295.
308. Preber H, Linder L, Bergstrom J. Periodontal healing and periopathogenic microflora in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol* 1995;22:946-952.
309. Bowen JA, Mellonig JT, Gray JL, Towle HT. Comparison of decalcified freeze-dried bone allograft and porous particulate hydroxyapatite in human periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1989;60:647-654.
310. Hammerle CH, Ingold HP, Lang NP. Evaluation of clinical and radiographic scoring methods before and after initial periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1990;17:255-263.
311. Oreamuno S, Lekovic V, Kenney EB, Carranza FA, Jr., Takei HH, Prokic B. Comparative clinical study of porous hydroxyapatite and decalcified freeze-dried bone in human periodontal defects. *J Periodontol* 1990;61:399-404.
312. Aichelmann-Reidy ME, Heath CD, Reynolds MA. Clinical evaluation of calcium sulfate in combination with demineralized freeze-dried bone allograft for the treatment of human intraosseous defects. *J Periodontol* 2004;75:340-347.
313. Chodroff RE, Ammons WF. Periodontal repair after surgical debridement with and without cartilage allografts. *J Clin Periodontol* 1984;11:295-312.
314. Haffajee AD, Socransky SS, Lindhe J, Kent RL, Okamoto H, Yoneyama T. Clinical risk indicators for periodontal attachment loss. *J Clin Periodontol* 1991;18:117-125.
315. Blumenthal NM, Alves ME, Al-Huwais S, Hofbauer AM, Koperski RD. Defect-determined regenerative options for treating periodontal intrabony defects in baboons. *J Periodontol* 2003;74:10-24.

316. Cortellini P, Carnevale G, Sanz M, Tonetti MS. Treatment of deep and shallow intrabony defects. A multicenter randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 1998;25:981-987.
317. Heins P, Avriett A, Chace R, Sr., Hartigan M. One-wall proximal defects: pretreatment characteristics and bone response following flap curettage. *J Clin Periodontol* 1990;17:282-287.
318. Kim CS, Choi SH, Chai JKet al. Periodontal repair in surgically created intrabony defects in dogs: influence of the number of bone walls on healing response. *J Periodontol* 2004;75:229-235.
319. Heden G, Wennstrom JL. Five-year follow-up of regenerative periodontal therapy with enamel matrix derivative at sites with angular bone defects. *J Periodontol* 2006;77:295-301.
320. Zaner DJ, Yukna RA. Particle size of periodontal bone grafting materials. *J Periodontol* 1984;55:406-409.
321. Shapoff CA, Bowers GM, Levy B, Mellonig JT, Yukna RA. The effect of particle size on the osteogenic activity of composite grafts of allogeneic freeze-dried bone and autogenous marrow. *J Periodontol* 1980;51:625-630.
322. Rabalais ML, Jr., Yukna RA, Mayer ET. Evaluation of durapatite ceramic as an alloplastic implant in periodontal osseous defects. I. Initial six-month results. *J Periodontol* 1981;52:680-689.
323. Sammartino G, Tia M, Marenzi G, di Lauro AE, D'Agostino E, Claudio PP. Use of autologous platelet-rich plasma (PRP) in periodontal defect treatment after extraction of impacted mandibular third molars. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63:766-770.
324. Fontana S, Olmedo DG, Linares JA, Guglielmotti MB, Crosa ME. Effect of platelet-rich plasma on the peri-implant bone response: an experimental study. *Implant dentistry* 2004;13:73-78.
325. Fennis JP, Stoelinga PJ, Jansen JA. Mandibular reconstruction: a clinical and radiographic animal study on the use of autogenous scaffolds and platelet-rich plasma. *International journal of oral and maxillofacial surgery* 2002;31:281-286.
326. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1997;55:1294-1299.

327. Butterfield KJ, Bennett J, Gronowicz G, Adams D. Effect of platelet-rich plasma with autogenous bone graft for maxillary sinus augmentation in a rabbit model. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63:370-376.
328. Pepelassi EM, Bissada NF, Greenwell H, Farah CF. Doxycycline-tricalcium phosphate composite graft facilitates osseous healing in advanced periodontal furcation defects. *J Periodontol* 1991;62:106-115.
329. Saffar JL, Colombier ML, Detienville R. Bone formation in tricalcium phosphate-filled periodontal intrabony lesions. Histological observations in humans. *J Periodontol* 1990;61:209-216.
330. Demir B, Sengun D, Berberoglu A. Clinical evaluation of platelet-rich plasma and bioactive glass in the treatment of intra-bony defects. *J Clin Periodontol* 2007;34:709-715.
331. Markou N, Pepelassi E, Vavouraki Het al. Treatment of periodontal endosseous defects with platelet-rich plasma alone or in combination with demineralized freeze-dried bone allograft: a comparative clinical trial. *J Periodontol* 2009;80:1911-1919.
332. Ozdemir B, Okte E. Treatment of intrabony defects with beta-tricalciumphosphate alone and in combination with platelet-rich plasma. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials* 2012;100:976-983.
333. Hassan KS, Marei HF, Alagl AS. Does grafting of third molar extraction sockets enhance periodontal measures in 30- to 35-year-old patients? *J Oral Maxillofac Surg* 2012;70:757-764.
334. Raghoobar GM, Schortinghuis J, Liem RS, Ruben JL, van der Wal JE, Vissink A. Does platelet-rich plasma promote remodeling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor? *Clin Oral Implants Res* 2005;16:349-356.
335. Nevins M, Giannobile WV, McGuire MKet al. Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: results of a large multicenter randomized controlled trial. *J Periodontol* 2005;76:2205-2215.
336. Zybutz M, Rapoport D, Laurell L, Persson GR. Comparisons of clinical and radiographic measurements of inter-proximal vertical defects before and 1 year after surgical treatments. *J Clin Periodontol* 2000;27:179-186.

337. Hildebolt CF, Pilgram TK, Yokoyama-Crothers Net al. Reliability of linear alveolar bone loss measurements of mandibular posterior teeth from digitized bitewing radiographs. *J Clin Periodontol* 1998;25:850-856.
338. Khocht A, Janal M, Harasty L, Chang KM. Comparison of direct digital and conventional intraoral radiographs in detecting alveolar bone loss. *J Am Dent Assoc* 2003;134:1468-1475.
339. Albandar JM, Abbas DK. Radiographic quantification of alveolar bone level changes. Comparison of 3 currently used methods. *J Clin Periodontol* 1986;13:810-813.
340. Carranza F, Takei, H. Glickman's Clinical Periodontology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2002.
341. Mol A. Imaging methods in periodontology. *Periodontol* 2000 2004;34:34-48.
342. Toback GA, Brunsvold MA, Nummikoski PV, Masters LB, Mellonig JT, Cochran DL. The accuracy of radiographic methods in assessing the outcome of periodontal regenerative therapy. *J Periodontol* 1999;70:1479-1489.
343. Tonetti MS, Pini Prato G, Williams RC, Cortellini P. Periodontal regeneration of human infrabony defects. III. Diagnostic strategies to detect bone gain. *J Periodontol* 1993;64:269-277.
344. Wolf B, von Bethlenfalvy E, Hassfeld S, Staehle HJ, Eickholz P. Reliability of assessing interproximal bone loss by digital radiography: intrabony defects. *J Clin Periodontol* 2001;28:869-878.
345. Karakurum N. Kemik İçi Periodontal Defektlerin Tedavisinde Trombositten Zengin Plazmanın Tek Başına ve Yönlendirilmiş doku Rjenerasyonu İle Birlikte Uygulamasının Klinik ve Radyolojik Sonuçlarının Değerlendirilmesi *Periodontoloji*. İzmir: Ege Üniversitesi, 2008.
346. Salvi GE, Lawrence HP, Offenbacher S, Beck JD. Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000 1997;14:173-201.
347. Schenck K, Poppelsdorf D, Denis C, Tollefsen T. Levels of salivary IgA antibodies reactive with bacteria from dental plaque are

associated with susceptibility to experimental gingivitis. *J Clin Periodontol* 1993;20:411-417.

348. Heasman PA, Collins JG, Offenbacher S. Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 beta, leukotriene B4, prostaglandin E2, thromboxane B2 and tumour necrosis factor alpha in experimental gingivitis in humans. *J Periodontal Res* 1993;28:241-247.
349. Loe H, Holm-Pedersen P. Absence and Presence of Fluid from Normal and Inflamed Gingivae. *Periodontics* 1965;149:171-177.
350. Hou LT, Liu CM, Rossomando EF. Crevicular interleukin-1 beta in moderate and severe periodontitis patients and the effect of phase I periodontal treatment. *J Clin Periodontol* 1995;22:162-167.
351. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol* 2000 2007;43:160-232.
352. Coen G, Ballanti P, Balducci A et al. Serum osteoprotegerin and renal osteodystrophy. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:233-238.
353. Sato T, Tominaga Y, Iwasaki Y et al. Osteoprotegerin levels before and after renal transplantation. *Am J Kidney Dis* 2001;38:S175-177.
354. Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev* 1999;20:345-357.
355. Vernal R, Chaparro A, Graumann R, Puente J, Valenzuela MA, Gamonal J. Levels of cytokine receptor activator of nuclear factor kappaB ligand in gingival crevicular fluid in untreated chronic periodontitis patients. *J Periodontol* 2004;75:1586-1591.
356. Babur C, Ozcan G, Cebi DU et al. Gingival crevicular fluid levels of osteoprotegerin (OPG) in premenopausal and postmenopausal women with or without chronic periodontitis. *J Dent* 2012;40:364-371.
357. Buduneli N, Buduneli E, Kutukculer N. Interleukin-17, RANKL, and osteoprotegerin levels in gingival crevicular fluid from smoking and non-smoking patients with chronic periodontitis during initial periodontal treatment. *J Periodontol* 2009;80:1274-1280.

358. Santos VR, Lima JA, Goncalves TE et al. Receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand/osteoprotegerin ratio in sites of chronic periodontitis of subjects with poorly and well-controlled type 2 diabetes. *J Periodontol*;81:1455-1465.
359. Bostanci N, Saygan B, Emingil G, Atilla G, Belibasakis GN. Effect of periodontal treatment on receptor activator of NF-kappaB ligand and osteoprotegerin levels and relative ratio in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 2011;38:428-433.
360. Duarte PM, da Rocha M, Sampaio E et al. Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after non-surgical periodontal therapy: a pilot study. *J Periodontol*;81:1056-1063.
361. Schenkein HA, Koertge TE, Brooks CN, Sabatini R, Purkall DE, Tew JG. IL-17 in sera from patients with aggressive periodontitis. *J Dent Res* 2010;89(9):943-947.
362. Lester SR, Bain JL, Johnson RB, Serio FG. Gingival concentrations of interleukin-23 and -17 at healthy sites and at sites of clinical attachment loss. *J Periodontol* 2007;78:1545-1550.
363. Shaker OG, Ghallab NA. IL-17 and IL-11 GCF levels in aggressive and chronic periodontitis patients: relation to PCR bacterial detection. *Mediators Inflamm*;2012:174764.
364. Koseki T, Gao Y, Okahashi N et al. Role of TGF-beta family in osteoclastogenesis induced by RANKL. *Cell Signal* 2002;14:31-36.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Ceren

Soyadı: Babür

Doğum Tarihi: 07.01.1981

Doğum Yeri: Yozgat

Medeni Hal: Bekar

Eğitim:

Doktora: Eylül 2005 – 2013 Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı, Ankara

Üniversite: 1999-2004 Hacettepe Üniversitesi, Ankara

Ortaokul ve Lise: 1992-1999: Yıldırım Bayezit Anadolu Lisesi, Ankara

İlkokul: 1987-1992: Demirlibahçe İlkokulu, Ankara

Yabancı Dil: İngilizce

11. TEŞEKKÜR

Periodontoloji alanında doktora eğitimi almamda desteği ve katkısı olan, öğrencisi olmaktan onur duyduğum Sayın Prof. Dr. Köksal Baloş'a,

Doktora öğrenciliğim süresince desteği, bilgisi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gönen Özcan'a,

Doktora eğitimime çok değerli ve bilgileri ile katkıda bulunan tüm Periodontoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine,

Tez çalışmamda büyük katkıları bulunan Sayın Prof. Dr. Nurdan Özmeriç ve Prof. Dr. Işıl Saygun , Prof. Dr. Gül Ergün, Dr. Burcu Özdemir'e

Tez ve klinik çalışmalarımda bana desteği bulunan tüm çalışma arkadaşlarıma,

Desteklerini ve dostluklarını esirgemeyerek yanımda olan sevgili arkadaşlarım Dr. Pelin Gökalp, Dr. Beste Pervane ve Dr. Zeynep Turgut Çankaya'ya,

Hayatım boyunca sevgisi ve desteğini esirgemeyerek yanımda olan sevgili annem Mevhibe Babür'e,

Beni hep cesaretlendirerek yanımda olan, bu tez çalışmasında ve araştırma projelerimde benimle laboratuvarında günlerce çalışan babam Cahit Babür'e

Sevgisi ve sabrını hiç esirgemeyen kardeşim ve en yakın arkadaşım Melike Babür'e

Candan teşekkürlerimi sunarım.

12. ETİK KURUL KARARI