

T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MİNE MATRİKS PROTEİN TÜREVLERİNİN PERİODONTAL DEFEKTLERDE  
KLİNİK ATAŞMAN KAZANCI ve *İN VİTRO* ORTAMDA PERİODONTAL  
LİGAMENT FİBROBLASTLARININ ÇOĞALMASI ve FARKLILAŞMASI  
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Ahu DİKİLİTAŞ  
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Bülend İNANÇ

VAN 2015

T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MİNE MATRİKS PROTEİN TÜREVLERİNİN PERİODONTAL DEFEKTLERDE  
KLİNİK ATAŞMAN KAZANCI ve *İN VİTRO* ORTAMDA PERİODONTAL  
LİGAMENT FİBROBLASTLARININ ÇOĞALMASI ve FARKLILAŞMASI  
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Ahu DİKİLİTAŞ  
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Bülend İNANÇ

VAN 2015

Bu araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Daire Başkanlığı tarafından 2014-SBE-D024 nolu proje olarak desteklenmiştir.

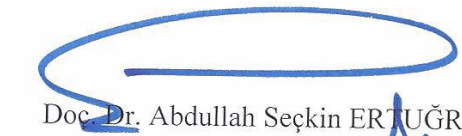
T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MİNE MATRİKS PROTEİN TÜREVLERİNİN PERİODONTAL  
DEFEKTLERDE KLİNİK ATAŞMAN KAZANCI ve *İN VİTRO*  
ORTAMDA PERİODONTAL LİGAMENT FİBROBLASTLARININ  
ÇOĞALMASI ve FARKLILAŞMASI ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

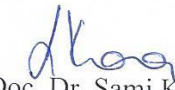
Dt. Ahu DİKİLİTAŞ  
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

  
Prof. Dr. İbrahim Levent TANER  
Jüri Başkanı

  
Doç. Dr. Bülend İNANÇ  
Üye

  
Doç. Dr. Abdullah Seçkin ERTUĞRUL  
Üye

  
Yrd. Doç. Dr. Nuri Murat ERSOY  
Üye

  
Yrd. Doç. Dr. Sami KARA  
Üye

TEZ KABUL TARİHİ  
19.03.2015

## TEŞEKKÜR

Tüm doktora eğitimim boyunca yanımda olan, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, tez çalışmalarımın ortaya çıkmasında ve hazırlanmasında büyük katkıları olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Bülend İnanc'a

Doktora eğitimi ve tez süresince her konuda çalışmalarına desteğini esirgemeyen sayın dekanım Prof. Dr. Gürcan Eskitaşçıoğlu'na, değerli bölüm hocalarım Doç Dr. Abdullah Seçkin Ertuğrul'a ve Doç Dr. Eylem Ayhan Alkan'a ve doktora sürecimizin her aşamasında yanımızda olan Gazi Üniversitesi Periodontoloji AD. öğretim üyelerine ve asistanlarına,

Tez çalışmalarım sırasında klinik ve laboratuvar işlemlerinde yardımlarını esirgemeyen asistan arkadaşlarım Nafi Onur'a, Nazlı Zeynep Alparslan'a, Burak Ak'a Yasin Tekin'e ve Esmâ Özeroğlu'na, aynı çalışma ortamını paylaşmaktan keyif aldığım asistan arkadaşlarım Hacer Şahin Aydınıyurt'a, Alihan Bozoğlu'na, Emre Gürkan Eroğlu'na, Ahmet Cemil Talmaç'a ve Yusuf Ziya Yüncü'ye

Laboratuvar çalışmalarımda desteklerini bende esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Mehmet Taşpınar'a ve Yrd. Doç. Dr. Ufuk Kömüroğlu'na ve istatistik konusundaki değerli bilgileriyle tezime ışık tutan Yrd. Doç. Dr. Gürol Zırhlıoğlu'na ve tezime verdiği destek için YYÜ Bilimsel Araştırmalar Proje Daire Başkanlığı'na, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne,

Yaşamımın anlamına anlam katan, varlığıyla bana güç veren sevgi ve desteğini her konuda hissettiğim sevgili eşim Eren Dikilitaş'a ve varlığıyla bana güç veren biricik oğluma,

Beni bugünlere getirmek için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, sevgi, şefkat, güven ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, hayatımın vazgeçilmezleri canım annem Nimet Parlak ve canım babam İsmail Parlak'a

Hayatımda olduğu günden beri desteğini her zaman hissettiğim, ümitsizliğe düştüğüm zamanlarda bana güç veren canım ablam Aslı Parlak Karaman'a ve canım yiğenim Duru Karaman'a; sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                 |      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Kabul ve Onay.....                                                                              | I    |
| Teşekkür.....                                                                                   | II   |
| İçindekiler.....                                                                                | III  |
| Simgeler ve Kısaltmalar.....                                                                    | VI   |
| Şekiller.....                                                                                   | VIII |
| Tablolar.....                                                                                   | XIII |
| 1. GİRİŞ.....                                                                                   | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                                                          | 4    |
| 2.1. Periodontal Dokular.....                                                                   | 4    |
| 2.1.1. Periodonsiyum ve işlevi .....                                                            | 4    |
| 2.1.2. Periodontal ligament .....                                                               | 4    |
| 2.2. Periodontal Hastalıklar-Enflamatuar Periodontal Hastalıklar.....                           | 6    |
| 2.2.1. Gingivitis.....                                                                          | 6    |
| 2.2.2. Periodontitis .....                                                                      | 7    |
| 2.2.3. Kemik defektleri.....                                                                    | 9    |
| 2.3. Periodontal Tedavi Basamakları .....                                                       | 14   |
| 2.4. Periodontal Tedavide Rejenerasyon.....                                                     | 17   |
| 2.4.1. Periodontal rejenerasyonda kemik greftleri .....                                         | 20   |
| 2.4.2. Kök yüzeyi biyomodifikasyonu .....                                                       | 22   |
| 2.4.3. Periodontal rejenerasyonda büyüme faktörleri .....                                       | 23   |
| 2.5. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu.....                                                     | 24   |
| 2.5.1. Rezorbe olmayan bariyer membranlar .....                                                 | 28   |
| 2.5.2. Rezorbe olan bariyer membranlar .....                                                    | 31   |
| 2.6. Diş Hekimliğinde Doku Mühendisliği.....                                                    | 34   |
| 2.6.1. Mine matriks proteini ile hedeflenen periodontal rejenerasyonun biyolojik temelleri..... | 35   |
| 2.6.2. Mine matriks türevlerinin kullanıldığı hayvan çalışmaları .....                          | 37   |
| 2.6.3. Mine matriks türevlerinin kullanıldığı klinik çalışmaları .....                          | 41   |
| 2.6.4. Mine matriks türevlerinin kullanıldığı <i>in vitro</i> çalışmalar .....                  | 43   |

|                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.7. Kemik Defektlerinin ve Rejeneratif Tedavi Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemler ..... | 45 |
| 2.7.1. İmage j programı .....                                                                               | 47 |
| 2.7.2. Konik ışınlı bilgisayarlı tomografi (CBCT) .....                                                     | 48 |
| 2.8. Tezin Gerekçesi.....                                                                                   | 49 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                                                                     | 51 |
| 3.1. Hasta ve Defekt Seçim Kriterleri .....                                                                 | 51 |
| 3.2. Başlangıç Periodontal Tedavi .....                                                                     | 51 |
| 3.3.Hasta Grubu ve Araştırma Planı .....                                                                    | 52 |
| 3.4. Operasyon Öncesi Alınan Klinik İndeks ve Ölçüm Kayıtları.....                                          | 57 |
| 3.4.1. Plak indeksi (PI) .....                                                                              | 58 |
| 3.4.2. Gingival indeks (GI).....                                                                            | 58 |
| 3.4.3. Dişeti oluğu kanama indeksi (DOKI).....                                                              | 59 |
| 3.4.4. Göreceli dişeti kenarı konum seviyesi .....                                                          | 60 |
| 3.4.5. Sondlanan cep derinliği (SCD) .....                                                                  | 60 |
| 3.4.6. Göreceli klinik ataşman seviyesi .....                                                               | 60 |
| 3.5. Operasyon Sırasında Alınan Klinik İndeks ve Ölçüm Kayıtları.....                                       | 60 |
| 3.6. Klinik İşlemler .....                                                                                  | 64 |
| 3.6.1. Test materyalleri.....                                                                               | 64 |
| 3.6.2. Cerrahi tedavi.....                                                                                  | 65 |
| 3.6.3.Operasyon sonrası enfeksiyon kontrolü ve bakım .....                                                  | 65 |
| 3.7. Radyografik Değerlendirmeler.....                                                                      | 69 |
| 3.7.1. Periapikal film üzerinde yapılan değerlendirmeler .....                                              | 69 |
| 3.7.1.1. Anatomik noktalar .....                                                                            | 69 |
| 3.7.1.2. Vertikal kemik yüksekliği değişimi (VKYD) .....                                                    | 70 |
| 3.7.1.3. Defekt alan değişimi (DALD) .....                                                                  | 70 |
| 3.7.1.4. Defekt açısı değişimi (DAÇD).....                                                                  | 71 |
| 3.7.1.5. Kemik yoğunluk değişimi (KYD) .....                                                                | 72 |
| 3.8. <i>In vitro</i> Ortamda Yapılan Çalışmalar .....                                                       | 74 |
| 3.8.1. Eksplant kültürlerinin oluşturulması .....                                                           | 74 |
| 3.8.2. Hücre kültür vasatı'nın oluşturulması .....                                                          | 76 |
| 3.8.3. Periodontal ligament hücre pasajlarının oluşturulması.....                                           | 80 |

|                                                                                                               |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.8.4. Periodontal ligament fibroblastlarının canlılığı ve proliferasyon deneyleri.....                       | 83  |
| 3.8.4.1. Mine matriks protein solüsyonunun hazırlanması.....                                                  | 83  |
| 3.8.4.2. Deneysel grupların oluşturulması.....                                                                | 83  |
| 3.8.5. Osteojenik indüksiyon deneysel ilaç derişimlerinin oluşturulması.....                                  | 84  |
| 3.8.6. Farklılaşma sonrası mineralizasyonun değeriendirilmesi (Alizarin Kırmızısı).....                       | 85  |
| 3.8.6.1. Deneysel grupların oluşturulması.....                                                                | 85  |
| 3.8.6.2. Alizarin kırmızısı ile mineralizasyonun değeriendirilmesi .....                                      | 87  |
| 3.8.7. Farklılaşma sonrasında osteojenik işaretiçilerin belirlenmesi- osteokalsin ve kemik sialoproteini..... | 89  |
| 3.8.7.1. Deneysel grupların oluşturulması.....                                                                | 89  |
| 3.8.7.2. Osteojenik işaretiçilerin belirlenmesi .....                                                         | 90  |
| 3.9. İstatistik Analiz.....                                                                                   | 93  |
| 4. BULGULAR.....                                                                                              | 94  |
| 4.1. Demografik Bulgular .....                                                                                | 94  |
| 4.2. Klinik ve Radyografik Parametrelerin Değeriendirilmesi .....                                             | 97  |
| 4.2.1. Grup içi değeriendirme.....                                                                            | 97  |
| 4.2.2. Gruplar arası değeriendirme.....                                                                       | 104 |
| 4.2.3. Klinik ve radyografik parametrelerin korelasyon analizi.....                                           | 113 |
| 4.3. <i>In vitro</i> Ortamda Elde Edilen Verilerin Değeriendirilmesi.....                                     | 115 |
| 4.3.1. PDLF hücre canlılığı ve proliferasyon test sonuçlarının değeriendirilmesi .....                        | 115 |
| 4.3.2. Farklılaşma sonrası mineralizasyonun değeriendirilmesi.....                                            | 135 |
| 4.3.3. Farklılaşma sonrası osteojenik işaretiçilerin değeriendirilmesi.....                                   | 136 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....                                                                                    | 146 |
| ÖZET .....                                                                                                    | 172 |
| SUMMARY .....                                                                                                 | 173 |
| KAYNAKLAR .....                                                                                               | 174 |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                                                                                 | 191 |
| EK 1.....                                                                                                     | 192 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR

|              |                                                        |
|--------------|--------------------------------------------------------|
| <b>AK</b>    | : Alveol kreti                                         |
| <b>CBCT</b>  | : Konik ışınlı bilgisayarlı tomografi                  |
| <b>DÇM</b>   | : Dişeti çekilme miktarı                               |
| <b>DAÇD</b>  | : Defekt açısı değişimi                                |
| <b>DALD</b>  | : Defekt alan değişimi                                 |
| <b>DDKKA</b> | : Demineralize dondurulmuş-kurutulmuş kemik allogrefti |
| <b>DKA</b>   | : Dondurulmuş kemik allogrefti                         |
| <b>DKKA</b>  | : Dondurulmuş-kurutulmuş kemik allogrefti              |
| <b>DMEM</b>  | : Dulbecco's modified eagle's medium                   |
| <b>DOKI</b>  | : Dişeti oluğu kanama indeksi                          |
| <b>DT</b>    | : Defekt tabanı                                        |
| <b>EDTA</b>  | : Etilendiaminintetraasetik asit                       |
| <b>ELISA</b> | : Enzyme-linked immunosorbent assay                    |
| <b>ePTFE</b> | : Expanded polytetrafluoroethylene                     |
| <b>FBS</b>   | : Fetal buzağı serumu                                  |
| <b>GI</b>    | : Gingival indeks                                      |
| <b>HEKK</b>  | : Hertwig epitel kök kını                              |
| <b>İBF</b>   | : İnsülin benzeri büyüme faktörü                       |
| <b>KAK</b>   | : Klinik ataşman kazancı                               |
| <b>KAS</b>   | : Klinik ataşman seviyesi                              |
| <b>KMP</b>   | : Kemik morfogenetik proteini                          |
| <b>KYD</b>   | : Kemik yoğunluk değişimi                              |
| <b>MAMP</b>  | : Matriks metalloproteinaz                             |
| <b>M-CSF</b> | : Makrofaj koloni uyarıcı faktör                       |
| <b>MMP</b>   | : Mine matriks proteini                                |
| <b>MSS</b>   | : Mine sement sınırı                                   |
| <b>NEAA</b>  | : Esansiyel olmayan amino asit                         |
| <b>PBS</b>   | : Fosfat dengeli tuz çözeltisi                         |
| <b>PGA</b>   | : Poliglikolik asit                                    |
| <b>PGAL</b>  | : Propilen glikol aljinat                              |

|                                |                                      |
|--------------------------------|--------------------------------------|
| <b>PI</b>                      | : Plak indeksi                       |
| <b>PLA</b>                     | : Polilaktik asit                    |
| <b>PLGA</b>                    | : Poliglikolid- laktid asit          |
| <b>PTFE</b>                    | : Polytetrafluoroethylene            |
| <b>RANK</b>                    | : Nükleer faktör kappas              |
| <b>RANKL</b>                   | : Nükleer faktör kappas ligand       |
| <b>SCD</b>                     | : Sondlanan cep derinliği            |
| <b>TGF-<math>\beta</math>1</b> | : Transforme edici büyüme faktörü    |
| <b>TIMP</b>                    | : Metalloproteinaz doku inhibitörü   |
| <b>TKBF</b>                    | : Trombosit kaynaklı büyüme faktörü  |
| <b>TNF</b>                     | : Tumor nekroz faktör                |
| <b>TZP</b>                     | : Trombositten zengin plazma         |
| <b>VEGF</b>                    | : Vasküler endotelyal büyüme faktörü |
| <b>VKYD</b>                    | : Vertikal kemik yüksekliği değişimi |
| <b>YDR</b>                     | : Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu  |
| <b>®</b>                       | : Kayıtlı marka                      |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. Kemik defektlerinin sınıflandırılması.....                                    | 13 |
| Şekil 2. Araştırma uygulama planı.....                                                 | 53 |
| Şekil 3. Vakum cihazı.....                                                             | 55 |
| Şekil 4. SX plak.....                                                                  | 55 |
| Şekil 5. SX plağın modele uyumlanması.....                                             | 56 |
| Şekil 6. 3 boyutlu bilgisayarlı tomografi.....                                         | 56 |
| Şekil 7. Ağız içi dijital radyografi sensörü.....                                      | 56 |
| Şekil 8. Halka şeklinde başlık, ara parça ve sensör tutucudan oluşan sistem.....       | 57 |
| Şekil 9. Akrilik ısırtma stentleri.....                                                | 57 |
| Şekil 10. Klinik indeks ve ölçüm kayıtları 1.....                                      | 61 |
| Şekil 11. Klinik indeks ve ölçüm kayıtları 2.....                                      | 62 |
| Şekil 12. Klinik indeks ve ölçüm kayıtları 3.....                                      | 63 |
| Şekil 13. Emdogain® jel ve Prefgel™.....                                               | 64 |
| Şekil 14. Bariyer membran.....                                                         | 64 |
| Şekil 15. Hastada bulunan kemik defektinin cerrahi tedavisi (kontrol).....             | 67 |
| Şekil 16. Hastada bulunan kemik defektinin cerrahi tedavisi (test).....                | 68 |
| Şekil 17. Radyografideki anatomik noktalar.....                                        | 69 |
| Şekil 18. Vertikal kemik yüksekliğinin ölçülmesi.....                                  | 70 |
| Şekil 19. Defekt alan sınırlarının çizilerek ölçülmesi.....                            | 71 |
| Şekil 20. Defekt açısı.....                                                            | 72 |
| Şekil 21. Defekt açısının ölçülmesi.....                                               | 72 |
| Şekil 22. Başlangıç kemik yoğunluğu değerinin ölçülmesi.....                           | 73 |
| Şekil 23. 6. ayda kemik yoğunluk değerinin ölçülmesi.....                              | 74 |
| Şekil 24. Ortodontik nedenle küçük azı dişinin çekimi.....                             | 75 |
| Şekil 25. Steril bistüri ile kazınan periodontal ligament dokusu .....                 | 75 |
| Şekil 26. Kazınan periodontal ligament dokusunun santrifüj tüpüne aktarılması.....     | 76 |
| Şekil 27. Hücre kültür vasatı içeren 25 cm <sup>2</sup> 'lik hücre kültür flaskı ..... | 76 |
| Şekil 28. Toz halindeki DMEM .....                                                     | 77 |
| Şekil 29. Fetal buzağı serumu.....                                                     | 78 |
| Şekil 30. Penisilin- Streptomisin.....                                                 | 78 |

|                                                                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 31.</b> Esansiyel olmayan aminoasit çözeltisi.....                                                                                                                        | 78 |
| <b>Şekil 32.</b> %95 nem, %5 CO <sub>2</sub> ve 37°C ısı ortamını sağlayan inkübatör.....                                                                                          | 79 |
| <b>Şekil 33.</b> Faz kontrast mikroskobu.....                                                                                                                                      | 79 |
| <b>Şekil 34.</b> 3 haftalık periodontal ligament fibroblastının faz kontrast mikroskobu ile görünümü (40X).....                                                                    | 80 |
| <b>Şekil 35.</b> Tripsin/EDTA karışımı.....                                                                                                                                        | 81 |
| <b>Şekil 36.</b> Tripsin/EDTA uygulanması sonrası ayrılan hücreler (25X).....                                                                                                      | 81 |
| <b>Şekil 37.</b> Santrifüj cihazı.....                                                                                                                                             | 82 |
| <b>Şekil 38.</b> Neubauer hemositometresi.....                                                                                                                                     | 82 |
| <b>Şekil 39.</b> 1. pasaj sonrası hemositometre ile hücre sayımı.....                                                                                                              | 82 |
| <b>Şekil 40.</b> Periodontal ligament fibroblastının 1. pasaj sonrası 5. gün faz kontrast mikroskobu ile görünümü (25X).....                                                       | 83 |
| <b>Şekil 41.</b> MTT sonrası formazan kristallerinin görünümü.....                                                                                                                 | 84 |
| <b>Şekil 42.</b> Osteojenik indüksiyonda kullanılan deneysel ilaçlar.....                                                                                                          | 85 |
| <b>Şekil 43.</b> 3 haftalık osteojenik indüksiyon sonrası alizarin kırmızı ile boyama.....                                                                                         | 86 |
| <b>Şekil 44.</b> 4 haftalık osteojenik indüksiyon sonrası alizarin kırmızı ile boyama.....                                                                                         | 86 |
| <b>Şekil 45.</b> Alizarin kırmızısı.....                                                                                                                                           | 88 |
| <b>Şekil 46.</b> Hücre kültür vasatı içeren kuyucukların alizarin kırmızı ile boyandıktan sonra invert ışık mikroskobunda görünümü (3 hafta- 4 hafta).....                         | 88 |
| <b>Şekil 47.</b> Osteojenik indüksiyon deneysel grubunu içeren kuyucukların alizarin kırmızı ile boyandıktan sonra invert ışık mikroskobunda görünümü (3 hafta- 4 hafta).....      | 88 |
| <b>Şekil 48.</b> Osteojenik indüksiyon+ MMP deneysel grubunu içeren kuyucukların alizarin kırmızı ile boyandıktan sonra invert ışık mikroskobunda görünümü (3 hafta- 4 hafta)..... | 89 |
| <b>Şekil 49.</b> MMP deneysel grubunu içeren kuyucukların alizarin kırmızı ile boyandıktan sonra invert ışık mikroskobunda görünümü (3 hafta- 4 hafta).....                        | 89 |
| <b>Şekil 50.</b> Osteokalsin ve kemik sialoproteini deneysel grupları.....                                                                                                         | 90 |
| <b>Şekil 51.</b> Gruplara göre defekt sayısının dağılımı.....                                                                                                                      | 96 |
| <b>Şekil 52.</b> Gruplara göre hasta sayısı dağılımı.....                                                                                                                          | 96 |
| <b>Şekil 53.</b> Hastaların cinsiyete göre dağılımı.....                                                                                                                           | 97 |
| <b>Şekil 54.</b> Defektlerin çene ve kadrana göre dağılımı.....                                                                                                                    | 97 |

|                                                                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Şekil 55.</b> Defektlerin dış tipine göre dağılımı.....                                                              | 98  |
| <b>Şekil 56.</b> MMP+YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI değerlerinin karşılaştırılması.....                            | 99  |
| <b>Şekil 57.</b> YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI değerlerinin karşılaştırılması....                                 | 100 |
| <b>Şekil 58.</b> MMP+YDR uygulanan grupta SCD, DÇM ve KAS değerlerinin karşılaştırılması.....                           | 101 |
| <b>Şekil 59.</b> YDR uygulanan grupta SCD, DÇM, KAS değerlerinin karşılaştırılması.....                                 | 102 |
| <b>Şekil 60.</b> MMP+YDR uygulanan grupta VKYD, DALD ve DAÇD değerlerinin karşılaştırılması.....                        | 103 |
| <b>Şekil 61.</b> MMP+YDR uygulanan grupta KYD değerinin karşılaştırılması.....                                          | 103 |
| <b>Şekil 62.</b> YDR uygulanan grupta VKYD, DALD ve DAÇD değerlerinin karşılaştırılması.....                            | 105 |
| <b>Şekil 63.</b> YDR uygulanan grupta KYD değerinin karşılaştırılması.....                                              | 105 |
| <b>Şekil 64.</b> PI değerlerinin karşılaştırılması.....                                                                 | 107 |
| <b>Şekil 65.</b> GI değerlerinin karşılaştırılması.....                                                                 | 107 |
| <b>Şekil 66.</b> DOKI değerlerinin karşılaştırılması.....                                                               | 108 |
| <b>Şekil 67.</b> SCD değerlerinin karşılaştırılması.....                                                                | 109 |
| <b>Şekil 68.</b> DÇM değerlerinin karşılaştırılması.....                                                                | 109 |
| <b>Şekil 69.</b> KAS değerlerinin karşılaştırılması.....                                                                | 110 |
| <b>Şekil 70.</b> VKYD değerlerinin karşılaştırılması.....                                                               | 112 |
| <b>Şekil 71.</b> DALD değerlerinin karşılaştırılması.....                                                               | 112 |
| <b>Şekil 72.</b> DAÇD değerlerinin karşılaştırılması.....                                                               | 113 |
| <b>Şekil 73.</b> KYD değerlerinin karşılaştırılması.....                                                                | 113 |
| <b>Şekil 74.</b> Birinci gün birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması.....            | 117 |
| <b>Şekil 75.</b> Birinci gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması.....             | 118 |
| <b>Şekil 76.</b> Birinci gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması.....             | 119 |
| <b>Şekil 77.</b> Birinci gün dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre sayılarının karşılaştırılması..... | 120 |

|                                                                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Şekil 78.</b> Birinci gün dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesinin karşılaştırılması.....  | 121 |
| <b>Şekil 79.</b> İkinci gün birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması.....                           | 122 |
| <b>Şekil 80.</b> İkinci gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması.....                            | 123 |
| <b>Şekil 81.</b> İkinci gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması.....                            | 124 |
| <b>Şekil 82.</b> İkinci gün dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre sayılarının karşılaştırılması.....                | 125 |
| <b>Şekil 83.</b> İkinci gün dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesinin karşılaştırılması.....   | 126 |
| <b>Şekil 84.</b> Üçüncü gün birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması.....                           | 127 |
| <b>Şekil 85.</b> Üçüncü gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması.....                            | 128 |
| <b>Şekil 86.</b> Üçüncü gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması.....                            | 129 |
| <b>Şekil 87.</b> Üçüncü gün dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre sayılarının karşılaştırılması.....                | 130 |
| <b>Şekil 88.</b> Üçüncü gün dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesinin karşılaştırılması.....   | 131 |
| <b>Şekil 89.</b> Dördüncü gün birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması.....                         | 132 |
| <b>Şekil 90.</b> Dördüncü gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması.....                          | 133 |
| <b>Şekil 91.</b> Dördüncü gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması.....                          | 134 |
| <b>Şekil 92.</b> Dördüncü gün dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre sayılarının karşılaştırılması.....              | 135 |
| <b>Şekil 93.</b> Dördüncü gün dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesinin karşılaştırılması..... | 136 |

|                                                                                                         |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Şekil 94.</b> Birinci dişte kemik sialoprotein değerlerinin karşılaştırılması.....                   | 138 |
| <b>Şekil 95.</b> İkinci dişte kemik sialoprotein değerlerinin karşılaştırılması.....                    | 139 |
| <b>Şekil 96.</b> Üçüncü dişte kemik sialoprotein değerlerinin karşılaştırılması.....                    | 140 |
| <b>Şekil 97.</b> Üç farklı dişten elde edilen kemik sialoprotein değerlerinin<br>karşılaştırılması..... | 141 |
| <b>Şekil 98.</b> Birinci dişte osteokalsin değerlerinin karşılaştırılması.....                          | 142 |
| <b>Şekil 99.</b> İkinci dişte osteokalsin değerlerinin karşılaştırılması.....                           | 143 |
| <b>Şekil 100.</b> Üçüncü dişte osteokalsin değerlerinin karşılaştırılması.....                          | 144 |
| <b>Şekil 101.</b> Üç farklı dişten elde edilen osteokalsin değerlerinin karşılaştırılması.....          | 145 |

## TABLolar LİSTESİ

|                                                                                                                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tablo 1.</b> Plak indeks değerleri.....                                                                                                                                                   | 58  |
| <b>Tablo 2.</b> Gingival indeks değerleri.....                                                                                                                                               | 59  |
| <b>Tablo 3.</b> Dişeti oluğu kanama indeksi değerleri.....                                                                                                                                   | 59  |
| <b>Tablo 4.</b> Hastaların sayısı, defekt sayısı, cinsiyet, yaş, çene, kadran ve dişlerinin<br>gruplara göre dağılımı.....                                                                   | 94  |
| <b>Tablo 5.</b> Tedavi öncesi ve sonrasında MMP+YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI<br>değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri.....                                                | 98  |
| <b>Tablo 6.</b> Tedavi öncesi ve sonrasında YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI<br>değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri .....                                                   | 99  |
| <b>Tablo 7.</b> Tedavi öncesi ve sonrasında MMP+YDR uygulanan grupta SCD, DÇM ve<br>KAS değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri.....                                               | 100 |
| <b>Tablo 8.</b> Tedavi öncesi ve sonrasında YDR uygulanan grupta SCD, DÇM ve KAS<br>değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri.....                                                   | 101 |
| <b>Tablo 9.</b> Tedavi öncesi ve sonrasında MMP+YDR uygulanan grupta VKYD, DALD,<br>DAÇD ve KYD değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri.....                                       | 102 |
| <b>Tablo 10.</b> Tedavi öncesi ve sonrasında YDR uygulanan grupta VKYD, DALD, DAÇD<br>ve KYD değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri .....                                         | 104 |
| <b>Tablo 11.</b> Tedavi öncesi ve sonrasında MMP+YDR ve yalnız YDR uygulanan<br>gruplarda PI, GI ve DOKI değerlerinin ortalama ve standart sapma<br>değerleri.....                           | 106 |
| <b>Tablo 12.</b> Tedavi öncesi ve sonrasında MMP+YDR ve yalnız YDR uygulanan<br>gruplarda marjinal periodontal doku değişimi SCD, DÇM ve KAS'ın<br>ortalama ve standart sapma değerleri..... | 108 |
| <b>Tablo 13.</b> Tedavi öncesi ve sonrasında MMP+YDR ve yalnız YDR uygulanan<br>gruplarda periodontal kemik defekti değişim değerlerinin ortalama ve<br>standart sapma değerleri.....        | 111 |
| <b>Tablo 14.</b> Periodontal doku değişim değerleri ile periodontal kemik defekti değişim<br>değerleri arasında korelasyon analizi.....                                                      | 115 |
| <b>Tablo 15.</b> Birinci gün hücre sayısının ortalama ve standart sapma değerleri.....                                                                                                       | 116 |

|                                                                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tablo 16.</b> Birinci gün elde edilen proliferasyon yüzdesinin ortalama ve standart sapma değerleri.....  | 120 |
| <b>Tablo 17.</b> İkinci gün hücre sayısının ortalama ve standart sapma değerleri.....                        | 122 |
| <b>Tablo 18.</b> İkinci gün elde edilen proliferasyon yüzdesinin ortalama ve standart sapma değerleri.....   | 125 |
| <b>Tablo 19.</b> Üçüncü gün hücre sayısının ortalama ve standart sapma değerleri.....                        | 127 |
| <b>Tablo 20.</b> Üçüncü gün elde edilen proliferasyon yüzdesinin ortalama ve standart sapma değerleri.....   | 130 |
| <b>Tablo 21.</b> Dördüncü gün hücre sayısının ortalama ve standart sapma değerleri.....                      | 132 |
| <b>Tablo 22.</b> Dördüncü gün elde edilen proliferasyon yüzdesinin ortalama ve standart sapma değerleri..... | 135 |
| <b>Tablo 23.</b> Kemik sialoprotein ortalama ve standart sapma değerleri.....                                | 137 |
| <b>Tablo 24.</b> Osteokalsin ortalama ve standart sapma değerleri.....                                       | 141 |

## 1. GİRİŞ

Periodonsiyum dişeti, periodontal ligament, sement ve alveol kemiğinden oluşmaktadırdır. Periodontal hastalıklar; genetik faktörler, çevresel faktörler, konak ve mikrobiyal faktörlerin birleşimi sonucu diş destek dokuların yıkımıyla oluşan kronik enflamatuvar durumlardır. Periodontal hastalık sonucu; epitelyal hücreler kök boyunca apikale doğru göç ederek periodontal cep oluşumuna neden olmakta ve kemik kaybı oluşmaktadırdır (Iwata ve ark., 2014).

Kemik defektleri; periodontitisi takiben kemiğın rezopsiyonu ile beraber subgingival plağın apikale göçü ve travma, anatomik faktörler, çok köklü dişlerde furkasyon bölgesindeki mine incileri ve kök morfolojisi gibi birçok kolaylaştırıcı faktörler sonucu oluşmaktadırdır (Bartold ve ark., 2010). Periodontal tedavi; mikrobiyal dental plak, diştaşı, kontamine sement ve dentinin uzaklaştırılarak bakteriyel floranın sağılıklı hale dönüştürölmesini ve iltihabın ortadan kaldırılmasını içermektedir. Periodontal tedavide rejenerasyonun; enflamasyon yüzünden hasar görmüş sementin yeniden oluşumunu, kemik kaybının restorasyonunu ve en önemlisi açığa çıkmış kök yüzeyine bağı dokusu liflerinin tutunarak yeniden bağı dokusu ataşmanın oluşumunu içerdığı rapor edilmiştir (Bartold ve ark., 2000; Kao ve ark., 2015). Geçmişten günümüze periodontal rejenerasyonun sağılanması için flep operasyonu ile beraber çeşitli materyaller kullanılmaktadırdır. Bu materyaller; sert ve yumuşak doku greftleri (Stavropoulos ve ark., 2011), mine matriks protein (MMP) türevleri (Meyle ve ark., 2011), trombositten zengin plazma (TZP) (Mathur ve ark., 2015), büyüme faktörleri, sitokinler, kemik morfogenetik proteinleri (KMP) (Coomes ve ark., 2014) gibi biyolojik medyatör ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda (YDR) (Sculean ve ark., 2008a) kullanılan bariyer membranlardır (Wang ve ark., 2005; Iorio-Siciliano ve ark., 2014).

YDR “bariyer membranın kök yüzeyi ile dişeti bağı dokusu arasına yerleştirilmesiyle, rejenerasyon gelişimini engelleyen dişeti epiteli ve bağı dokusu hücrelerinin defekt bölgesine göç etmesinin önlenmesi ve uygun boşluk oluşturularak rejenerasyon kapasitesine sahip periodontal ligament ve alveol kemiğı hücrelerinin defekt bölgesine göç etmesine izin verilmesi” olarak tanımlanmaktadır (Karring ve

Lindhe, 2008). Son yapılan çalışmalara göre kemik içi ve furkasyon defektlerinin tedavisinde YDR açık flep debridmanına göre daha başarılı bulunmuştur (Jepsen ve ark., 2002).

Diş oluşumu sırasındaki basamakların aydınlatılması ile beraber periodontal rejeneratif tedavide yeni yaklaşımlar ortaya çıkmaya başlamış ve odontogeneze rol oynadığına inanılan spesifik faktörlerden biri olan MMP bu amaçla kullanılmaya başlanmıştır (Lyngstadaas ve ark., 2001). Diş gelişimi sırasında Hertwig epitel kök kını (HEKK) tarafından salgılanan MMP; diş folikülünden kaynaklanan mezenkimal hücrelerin sementoblastlara farklılaşmasını ve sementoblastlardan da hücresiz sement oluşumunu sağlamaktadır (Hammarström, 1997). MMP amelogenin, amelin, enamelin, tuft proteini, proteaz ve albümin gibi birçok proteinden oluşmaktadır. Bu proteinlerin hücresiz sement gelişiminde, periodontal ligament ve kemik oluşumunda önemli olduğu bildirilmiştir. Amelogeninler MMP’de en fazla bulunan proteindir ve diş dokularının formasyonu ve mineralizasyonunda önemli molekülüdür (Gestrelus ve ark., 2000). MMP’nin *in vitro* ortamda etkisini araştıran çalışmalarda; MMP’nin periodontal ligament hücresinin çoğalmasını sağladığı, total protein üretimini arttırdığı ve osteoblast öncü hücrelerinin farklılaşmasını ve çoğalmasını uyardığı gösterilmiştir (Gestrelus ve ark., 1997; Schwartz ve ark., 2000). Yapılan başka bir *in vitro* çalışmada kök embriyogenezi ile beraber HEKK’in parçalandığı ve iç katmanlarındaki hücrelerden MMP’nin ortama salındığı bildirilmiştir (Slavkin, 1976). MMP’nin periodontal ligament fibroblastlarının çoğalmasını, protein sentezini ve mineralize doku oluşumunu arttırdığı rapor edilmiştir (Van der Pauw ve ark., 2000; Bosshardt, 2008).

Literatür incelendiğinde periodontal kemik içi defektlerinin tedavisinde MMP’nin tek başına YDR ile ya da kemik greftleri ile kombine kullanıldığı görülmüş ve bu çalışmalarda farklı başarı oranları elde edildiği bildirilmiştir (Siciliano ve ark., 2011; Leonardis and Paolantonio, 2013; Mitani ve ark., 2014; Ogihara and Tarnow, 2014). Crea ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada MMP ile rezorbe olmayan membran kullanılarak yapılan YDR tekniği karşılaştırılmış ve elde edilen sonuçlara göre her iki tedavi yönteminin de kemik içi defektlerin tedavisinde başarılı olduğu, MMP ile tedavi edilen grupta daha iyi sonuçlar elde edildiği ancak aradaki farkın anlamlı bulunmadığı bildirilmiştir (Crea ve ark., 2008). Pontoriero ve arkadaşları

yaptıkları bir çalışmada 40 adet kemik içi defekt 4 gruba ayrılarak tedavi edilmiştir. Gruplardan biri MMP, diğeri rezorbe olmayan membran ve geri kalan 2 grup da rezorbe olabilen sentetik membranlar ile tedavi edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre operasyon sonrası tüm tedavi gruplarında eşit derecede klinik başarı sağlandığı bildirilmiştir (Pontoriero ve ark., 1999). YDR tekniğı, operasyon sırasında uygulama zorluğu ve yara iyileşmesi sırasında oluşan çeşitli problemleri de beraberinde getirmektedir (Christgau ve ark., 2006). Sanz ve arkadaşları yaptıkları çok merkezli kontrollü klinik çalışmalarında, MMP ile rezorbe olabilen sentetik membran kullanılarak gerçekleştirilen YDR tekniğinin klinik etkinliğini karşılaştırmışlardır. Çalışmaya katılan 67 hastanın 35'i MMP ile tedavi edilirken, diğeri 32'si YDR ile tedavi edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda, her iki uygulamanın da sondlanan cep derinliğinde (SCD) azalma ve klinik ataşman kazancı (KAK) yönünden başarılı sonuçlar verdiği ancak birbirlerine bir üstünlüklerinin bulunmadığı bildirmiştir (Sanz ve ark., 2004). MMP ve YDR tekniklerinin kemik içi defektlerinde etkinliklerinin değerlendirilmesi ve MMP'nin *in vitro* ortamda rejenerasyona katkısının anlaşılması bu çalışmanın ana amacını teşkil etmektedir.

Yapılan çalışmalarda MMP'nin birçok rejeneratif materyalle beraber kullanımının klinik veya *in vitro* çalışmalarda araştırılmış olmasına karşın hem klinik hem de *in vitro* ortamdaki etkisinin beraber değerlendirildiğı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda;

1. Kemik içi defektlerin tedavisinde YDR ve YDR'ye ek olarak uygulanan MMP türevlerinin etkisinin klinik periodontal parametreler kullanılarak değerlendirilmesi,
2. Kemik içi defektlerin tedavisinde YDR ve YDR'ye ek olarak uygulanan MMP türevlerinin etkisinin periapikal radyografi ve 3 boyutlu konik ışınli bilgisayarlı tomografi (CBCT) sistemi ile değerlendirilmesi,
3. MMP türevlerinin *in vitro* ortamda periodontal ligamanet fibroblastların çoğalması ve farklılaşması üzerine etkilerinin değerlendirilmesi,
4. MMP türevlerinin kemik içi defektlerinin tedavisinde YDR'ye ek olarak klinik ve radyolojik parametreler ve *in vitro* ortamda periodontal ligamanet fibroblastlarına etkisinin elde edilen veriler kullanılarak kıyaslanması amaçlanmıştır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Periodontal Dokular**

#### **2.1.1. Periodonsiyum ve işlevi**

Periodonsiyum dişeti, periodontal ligament, sement ve alveol kemiğinden oluşan bir yapıdır. Dişeti alveoler kemiği çevreleyerek dişleri sement mine bağlantısından saran bir destek dokudur ve diğer dokuları korumakla görevlidir. Dişeti serbest dişeti, yapışık dişeti ve interdental dişeti olmak üzere 3 kısımdan oluşmaktadır (Fiorellini ve ark., 2006a). Periodontal ligament diş kökünü alveol kemiğine bağlayan çok sayıda damar ve hücre içeren bir dokudur. Periodontal ligamanet gelen oklüzal kuvvetlerin kemiğe iletilmesini, dişin kemiğe bağlanmasını, yapım ve remodeling sürecini, beslenme ve sinir iletimini sağlamaktadır. Sement kalsifiye ve kök yüzeyini çevreleyen mezenşimal bir dokudur. Kalsifiye lifler arasında matriks ve kollajen liflerden oluşan hücreli ve hücreli olmak üzere 2 tip sement vardır. Alveol kemiği maksiler ve mandibular kemiğin diş yuvalarını oluşturan ve dişleri destekleyen bölümüdür. Kemik; diş sürdüğünde oluşarak, diş kaybedildiğinde ise ortadan kalkmaktadır (Fiorellini ve ark., 2006b).

#### **2.1.2. Periodontal ligament**

Periodontal ligament diş ve alveoler kemik arasında bulunan damarlardan ve hücrelerden zengin bir dokudur. Periodontal ligament boşluğu kum saati şeklindedir ve genişliği yaklaşık 0,25 mm'dir. Destekleyici, bağlayıcı ve duyusal işlevleri bulunmaktadır. Periodontal ligament diş alveol soketine bağlarken aynı zamanda çene kemiğindeki konumunda sürmesini sağlayan hücreler, damarsal elemanlar, glikozaminoglikanların ve proteinlerin hücre dışı elemanları ile eşsiz bir fizyolojik işlev sağlamaktadır. Periodontal ligamentin değişen kuvvetlere hızla uyum sağlama, yenilenme ve tamir yetenekleri bulunmaktadır. Bu karakteristik özelliklerin temelinde özelleşmiş hücreler rol oynamaktadır. Bu hücreler; kemiğe yakın osteoblast ve osteoklastlardan, bağ dokusu içinde fibroblast, HEKK'den köken alan Malessez epitel hücre artıkları, makrofajlar, farklılaşmamış mezenşimal hücreler, nöral elemanlar ve endotelial hücrelerden; kök yüzeyinde ise sementoblastlardan oluşmaktadır.

Periodontal ligament alveol kemiği ile diş kökü arasındaki bağlantıyı kollajen lif demetleri ile sağlamaktadır. Bulundukları yerdeki seyirlerine göre; alveoler kret lifleri, horizontal lifler, oblik lifler ve apikal lifler olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadır. Periodontal ligament diş kökünü çene kemiğine bağlayarak çok absorbe edici özelliği ile çeşitli yönlerden gelen mekanik kuvvetleri dağıtmaktadır. Bu fonksiyonel özellikleri kollejen lif demetleri ve glikozaminoglikan, glikolipid ve glikoproteinlerden oluşan dirençli matriksinden kaynaklanmaktadır (Lindhe ve ark., 2008).

Fibroblastlar periodontal ligamentin temel hücresidir ve yaklaşık yirmi adet bağlantı çeşidiyle birbirleri ile bağlantılı durumdadırlar. Bunun yanında kimyasal sinyaller aracılığı ile iletişim sağlamaktadırlar. Fibroblast hücreleri kollajen liflere paralel uzanmaktadır ve yıldızsı şekle sahiptir. Fibroblastlar diş destek dokularının gelişiminde, yapısında ve işlevinde olduğu gibi tamir, rejenerasyon ve yenilenme mekanizmalarında da önemli rol oynamaktadır. Fibroblastların bağ dokusunun yenilenmesinde kollajen ve ekstrasellüler matriks sentezleme; doku yıkımı sırasında osteoklastik kemik rezorpsiyonunu uyaran sitokinleri salgılama işlevleri bulunmaktadır. Diş sürmesi ve periodontal ligament fibroblastlarının migrasyonu ve çoğalması bir düzen içinde meydana gelen birbirlerine bağımlı olaylardır. Fibroblast populasyonları yenilenen hücre sistemlerinin populasyonlarına benzerlik göstermektedir ve çok ileri düzeyde farklılaşmış hücre toplulukları olan progenitör hücre populasyonlarından oluşmaktadır. Bu populasyonlar kan damarları çevresinde ve endosteal alanlara yakın bulunmaktadır (Lekic ve McCulloch, 1996).

Periodontal rejenerasyonun sağlanması için çeşitli hücre tiplerinin işlevselliği gerekmektedir. Bağlantı epiteli, dişetin ve periodontal ligament bağ dokusunun fibroblastik hücreleri ve mineralize doku oluşturan hücrelerden kemik rejenerasyonu için alveol kemiği, sement rejenerasyonu için sementoblast hücreleri gerekmektedir. Sementoblastlar periodontal ligament içindeki hücrelerden ve kemik içindeki endosteal alanlardan köken almaktadır. Hücrelere bağlı rejenerasyon sürecinin gerçekleşmesi sinyal sistemleri tarafından kontrol edilmektedir. Bölgede bulunan matriks proteinleri ve hücre yüzey reseptörleri gen ekspresyonunu başlatarak hücreler arası sinyalleşmeyi sağlamaktadır. Kimyasal medyatörler hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak hücre göçü, ekstrasellüler matriks sentezi, hücre şeklinin değişmesi gibi çeşitli hücreler arası

mekanizmaları aktive etmektedir. Bu medyatörler çeşitli büyüme faktörleri, adezyon molekülleri (fibronektin, laminin, osteopontin, kemik sialoprotein, kollajenler ve sement bağlayıcı proteinler) ve sitokinlerdir. Fibroblastlarda bulunan bu moleküllerin hücre proliferasyonu ve matriks sentezinde rol oynadığı bildirilmiştir (Bartold ve ark., 2000). Fibroblastların sementojenik, osteojenik ve fibroblastik etkisi ile periodontal defektlerde yeni sement, kemik ve periodontal ligament rejenere etme kapasitesi bulunmaktadır (Melcher, 1976).

## **2.2. Periodontal Hastalıklar- Enflamatuvar Periodontal Hastalıklar**

### **2.2.1. Gingivitis**

Gingivitis dental plağa karşı oluşan, dişetinin enflamatuvar bir hastalığıdır. Mikroorganizmalar dental plak içinde kolonize olarak salgıladığı bakteriyel ürünler ile dişetinde enflamasyona neden olmaktadır. Diş yüzeyinin temizlenmesinin ardından mikroorganizmaların temiz diş yüzeyinde hızla kolonize olduğu ve birkaç gün içinde gingivitisin klinik ve mikroskopik bulgularının görünür hale geldiği rapor edilmiştir. Puberte ve hamilelik gibi hormonal değişimler, hipertansiyon, epilepsi ve immünsüpresyon tedavisinde kullanılan bazı ilaçlar dental plağa karşı oluşan gingivitis şiddetini arttırmaktadır. Sigara ise nikotin damar daraltıcı etkisi ile dişeti enflamasyonunun şiddetinin azaltarak gingivitis bulgularını maskeleymektedir (Kinane, 2001).

Axelsson ve ark. 375 kişi üzerinde 15 yıl boyunca yaptıkları bir çalışmada; evde yapılan düzenli diş yüzeyi temizliği işlemleri ve belirli aralıklarla yapılan profesyonel diş yüzeyi temizliği işlemlerinin plak birikimini önleyerek periodontal destek dokuların kaybına engel olduğu bildirilmiştir (Axelsson ve ark., 1991). Trombelli ve arkadaşlarının 96 kişi üzerinde yaptıkları çalışmada aynı süre içinde farklı kişilerde dental plağa karşı oluşan dişeti enflamasyonunun şiddetinin farklı olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada bazı hastalarda dişeti enflamasyonu çok hızlı oluşurken diğerlerinde çok daha yavaş olduğu görülmüştür. Bu bireysel farklılıkların genetik, çevresel faktörler ya da ikisinin kombinasyonu sonucu oluştuğu düşünülmektedir (Trombelli ve ark., 2004).

Sağlıklı dişetinde enflamasyonun histopatolojik özellikleri görülmemektedir ve dişeti sağlığında altın standardı oluşturmaktadır. Fakat klinik olarak bu duruma ulaşmak oldukça zordur. Klinik olarak çok sağlıklı bir dişetinde bile bir miktar plak birikiminin görüldüğü rapor edilmiştir. Plak birikimini takiben 4. günde akut enflamatuvar cevap oluşarak başlangıç lezyonu oluşmaktadır. Başlangıç lezyonu dişeti oluğu bölgesinde konumlanmıştır ve bağlantı epitelinin bir kısmı ile bağ dokusunun koronal kısmını kapsamaktadır. Başlangıç lezyonunda dentogingival pleksustaki arterler, kapiller ve venüllerde genişleme görüldüğü ve aynı zamanda geçirgenliğin arttığı rapor edilmiştir. Kan akımı ve dişeti oluğu sıvısının artması ve nötrofil göçünün görülmesi başlangıç lezyonun en önemli özelliklerinden biridir. Epitelin altındaki bağ dokusunda % 5- % 10 arası enflamatuvar infiltrat görüldüğü bildirilmiştir. Plak birikimini takiben 7. günde başlangıç lezyonundaki enflamatuvar infiltratın birikimi sonucu erken lezyon görülmeye başlamaktadır. Lezyonun çevresinde lenfositler ve makrofajlar yaygın olmakla beraber bağ dokusundaki enflamatuvar infiltratın %15 oranında ve kollejen yıkımının % 60-70 arasında olduğu gösterilmiştir. Klinik olarak enflamatuvar değişiklikler ödem ve eritem olarak görünür hale gelmiştir. Plak birikimini takiben 2.- 3. haftada erken lezyon yerleşik lezyona dönüşmekte ve plazma hücreleri ile lenfositler baskın hücre haline gelmektedir. Yerleşik lezyonda dişeti oluğu derinleşmiş ve bağlantı epitelinin koronal kısmı cep epiteline dönüşmüştür. Yerleşik lezyonu takiben periodontal cep oluşumu, yüzey ülserasyonu ve süpürasyonu, alveoler kemik ve periodontal ligament kaybı, diş mobilitesi ve diş kaybına kadar bir süreci kapsayan ileri lezyon oluşmaktadır. İleri lezyon yerleşik lezyon ile benzer özelliklere sahiptir fakat bu özelliklere ilave olarak kök yüzeyinde bağ dokusu atışman kaybı meydana geldiği ve epitelyal atışmanın apikale göç ettiği bildirilmiştir. İleri lezyonda gingivitis artık periodontitise dönüşmüştür (Kinane, 2001).

### **2.2.2. Periodontitis**

Gingivitis ve periodontitis devam eden süreçlerde diş destek dokularını etkileyen kronik enflamatuvar durumlardır. Periodontitis, gingivitisi takiben değişen immün cevaba bağlı olarak gelişmektedir. Populasyonun %10-15'inde görülmektedir. Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalara göre çok az kişide ve bu kişilerin sadece belirli bölgelerdeki dişlerinde ileri periodontal yıkım görülmektedir (Michalowicz ve

ark., 2000). Periodontitis bir enfeksiyon hastalığıdır. Hastalığın oluşması için patojen gereklidir fakat tek başına patojen yeterli olmamaktadır. Genetik faktörler, çevresel faktörler, konak ve mikrobiyal faktörlerin birleşimi sonucu yıkıcı peiodontal hastalığın oluştuğu rapor edilmiştir (Page ve ark., 1997). Enflamatuvar periodontal hastalığın oluşması için spesifik mikroorganizma varlığı önemli bir faktördür fakat hastalığın ilerlemesi konak kökenli risk faktörlerine bağlı olmaktadır. Genetik, yaş, ırk, sigara, sosyo-ekonomik faktörler ve sistemik durum gibi risk faktörleri ile beraber periodontitis eko-genetik bir hastalık olarak tanımlanmıştır (Kinane ve Bartold, 2007).

Periodontal patojenler ve diğer anaeroblar doku yıkımı ve enflamasyonu başlatmak için çeşitli enzim ve toksinler salgılamaktadır. Aynı zamanda çeşitli artık ürünler üreterek dokularda tahribata da neden olmaktadır. Periodontal patojenlerin dişeti cebinde yaşamlarını sürdürmek için salgıladıkları enzimler ile konaktaki ekstrasellüler matriksi parçaladıkları rapor edilmiştir (Darveau ve ark., 1997). Patojen yüzey proteinlerinin konakta immün cevabı başlatması sonucu; lökosit, fibroblast ve dokudaki yapısal hücrelerden proteaz, sitokin, prostaglandin ve konak enzimleri salgılanmaktadır. Proteazların dokudaki kollejeni parçalayarak lökosit infiltrasyonu için alan yarattıkları bildirilmiştir (Kornman ve ark., 1997). Bunun sonucunda periodontal dokular ödemli ve iltihaplı hale gelerek diş zayıf bir şekilde bağlanmaktadır. Periodontitiste diş bağlanan bağ dokusu ataşmanı parçalanarak ve aynı zamanda epitel hücreleride kök boyunca apikale doğru çoğalarak periodontal cep oluşumuna neden olmaktadır. Bu duruma ek olarak osteositler kemiği parçalamaya başlamaktadır (Schwartz ve ark., 1997). Subgingival plak birikiminin artması ve bakteriyel floranın çoğalması sonucunda cep daha da derinleşerek, konak cevabı yıkıcı ve kronik hale gelmektedir. Bu durum sonucunda periodontitis daha da ilerleyerek diş kaybına kadar neden olabilmektedir (Kinane, 2001).

İmmün sistem periodontitis gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Kemik metabolizması ile immün sistem ilişkisi ortaya konulmuş ve osteoimmünoloji olarak adlandırılmıştır. Makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF) osteoklast gelişimi ve aktivasyonunda rol oynayan erken sinyal molekülüdür. Nükleer faktör kappab ligand (RANKL) osteoklast gelişiminde anahtar role sahip bir medyatördür. Normal kemik metabolizmasında RANKL osteoblastlardan salgılanmaktadır fakat enflamatuvar

durumlarda T-lenfosit ve fibroblastlardan salgılanarak reseptörü Nükleer faktör kappab'ya (RANK) bağlanıp osteoklast oluşumunda rol oynamaktadır. Tumor nekroz faktör'ün (TNF) RANKL yokluğunda kemik rezorpsiyonunda etkili olduğu düşünülmekteydi fakat günümüzde RANKL'ın osteoklast oluşumunda temel molekül olduğu bildirilmiştir (Lam ve ark., 2000). Osteoprotegerin doğal RANKL inhibitörüdür. RANKL'ın RANK'a bağlanmasını bozarak osteoklastogeneze engel olmaktadır. Osteoprotegerin insan periodontal ligament hücresi, fibroblast ve epiteliyel hücrelerinden salgılanmaktadır (Kazaki ve ark., 2002). RANKL ve osteoprotegerin düzeyleri arasındaki dengenin periodontal hastalıktaki kemik yıkım derecesini belirlediği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Bostancı ve ark., 2007).

### **2.2.3. Kemik defektları**

Periodontal hastalıklar kemik yüksekliği ve hacmini azaltarak kemik morfolojisinde değişimlere neden olmaktadır. Alveoler kemik yüksekliğinin azalması yıkıcı periodontal hastalığın önemli göstergelerinden biridir. Oklüzyondan ve gıda sıkışmasından kaynaklanan travma, plak birikimine neden olan anatomik faktörler ve çok köklü dişlerde furkasyon bölgesindeki mine incileri kemik defektlerinin oluşumuna neden olan faktörler arasında sayılmaktadır. Kemik defektlerinin; birçok kolaylaştırıcı faktörün yanında kemiğin rezorpsiyonu ile beraber subgingival plağın apikale göçü sonucu oluştuğu bildirilmiştir (Papapanou ve Tonetti, 2000).

Alveoler kemiğin yüksekliği ve yoğunluğu, lokal ve sistemik faktörler sonucu oluşan kemik oluşumu ve kemik yıkımı arasındaki denge ile korunmaktadır. Kemik yıkımı yapımını aştığı zaman kemik yüksekliği ve yoğunluğu azalmaktadır. Alveol kemik seviyesi geçmişte yaşanan patolojiyi, cep duvarındaki yumuşak doku ise sürmekte olan enflamatuvar durumu göstermektedir. Sonuç olarak kemik kaybının derecesi periodontal cebin derinliği ve enflamasyonu ile ilişkili olmak zorunda değildir (Carranza ve Takei, 2006).

Kemik yıkımına neden olan faktörler 3 ana gruba ayrılmaktadır:

1. Dişeti enflamasyonunun yayılması sonucu oluşan kemik yıkımı: Kemik yıkımının en yaygın nedeni dişeti enflamasyonunun destekleyen dokulara

yayılmasıdır. Enflamasyonun yayılma yolu periodontal hastalıkta kemik yıkımının şeklini belirlemektedir. Dişetindeki enflamasyon; kollajen lif demetleri arasından kan damarları boyunca yayılmaktadır ve enflamatuvar infiltrat marjinal periodonsiyumda kısıtlı kalarak kemikte yıkım oluşmadan engellenmektedir. Dişler arası bölgede ise enflamasyon; gevşek bağ dokusu etrafındaki kan damarları ve lifler boyunca ilerleyerek kanallar aracılığı ile septumu perfore ederek yayılmaktadır (Moskow ve Polson, 1991). Enflamasyonun doğrudan periodontal ligamente, oradanda dişler arası kemiğe yayıldığı durumlar daha nadirdir (Carranza ve Takei, 2006). Enflamasyonun ilerlemesi sonucu gingival ve transseptal lifler parçalanmaktadır. Kök boyunca kemik yıkım bölgelerinde parçalanan transeptal liflerin tekrar organize olduğu bildirilmiştir (Ooya ve Yamamoto, 1978). Enflamasyon dişetinden kemiğe ulaştıktan sonra kemik iliği boşluklarına yayılarak bu bölgeleri doldurmaktadır. Kemik trabeküllerinde incelme ve kemik iliği boşluklarında büyüme görülerek kemik yıkımı gerçekleşmekte ve bunun sonucunda fibröz tip kemik iliği oluşmaktadır (Carranza ve Takei, 2006). Kemik yıkımı yavaş ilerleyen bir süreçtir fakat aktif dönemlerde bulunmaktadır. Aktif dönemlerinin nedeni akut enflamatuvar reaksiyon, plazma hücrelerinin yoğunluğunun artması, anaerobik bakteriyel floranın artması ve artmış konak savunma mekanizması olarak sayılabilmektedir. Kemik yıkım mekanizmasında bakteriyel plak ve kimyasal medyatörler; kemik progenitör hücrelerinin osteoklastlara dönüşmesini uyarmakta ve osteoblastlara doğrudan etki ederek onların sayılarını azaltmaktadır. Kemik yıkımının olduğu bölgeye komşu bölgelerdeki trabeküler kemikte bir miktar kemik yapımı görülmektedir. Bu yeni oluşan kemiğe destekleyen (buttressing) kemik denir (Carranza ve Takei, 2006).

2. Oklüzyondan kaynaklı travma nedeniyle oluşan kemik yıkımı: Enflamasyon olmadan ya da enflamasyon varlığında travma nedeniyle kemik yıkımı görülebilmektedir. Travma ortadan kaldırılırsa görülen değişiklikler geri dönüşümlü olurken travma kalıcı olursa periodontal ligamentte huni şeklinde genişleme ve komşu kemikte yıkım görülmektedir. Artan travmaya uyum sağlamak için kemikte açılmal kayıp görülerek ve diş destek dokuları zayıflamakta ve diş mobilitesi artmaktadır (Carranza ve Takei, 2006).

3. Sistemik hastalıklar sonucu görülen kemik yıkımı: (Carranza ve Takei, 2006).

Amerikan Periodontoloji Derneği'nin 1992'de yayınladığı Periodontoloji Terimler Sözlüğü'nde, kemik içi defekt "1, 2 ya da 3 duvarla veya her üçünün birleşimiyle çevrili, kemik içindeki periodontal defekt" olarak tanımlanır ("Glossary of periodontal terms", 2001). Lang 2000 yılında yayınladığı derlemesinde, kemik içi defektlerini Goldman ve Cohen'in 1958'de belirledikleri ölçütler uyarınca sınıflandırıldığını bildirmiştir. Kemik içi defektler 3'e ayrılmaktadır (Lang, 2000):

- Tek-duvarlı kemik içi defektler: Bir kemik duvarı ve diş yüzeyi ile sınırlı defektlerdir.
- İki-duvarlı kemik içi defektler: İki kemik duvarı ve diş yüzeyi ile sınırlı defektlerdir.
- Üç-duvarlı kemik içi defektler: Üç kemik duvarı ve diş yüzeyi ile sınırlı defektlerdir.

Carranza kemik defektlerini horizontal ve vertikal (açısal) olmak üzere ikiye ayırmıştır. Vertikal kemik defektlerinde oblik kemik kaybı görülmektedir ve kalan kemik miktarına göre 1 duvarlı, 2 duvarlı, 3 duvarlı ve kombine kemik defektleri olarak sınıflandırılmaktadır. 3 duvarlı kemik defektleri kemik içi defekt olarak adlandırılmaktadır (Carranza ve Takei, 2006).

Goldman ve Cohen'e göre cep tabanı alveoler kretin üzerinde olduğunda kemik üstü defekt (horizontal), cep tabanı alveoler kretin apikalinde olduğunda kemik altı defekt olarak adlandırılmaktadır. Horizontal kemik defektleri en yaygın görülen kemik defektleridir. Kemik yüksekliğinde azalma görülmektedir ve fasiyal, lingual ve dişler arası bölgedeki septum belli oranlarda etkilenmiştir. Kemik altı defektler kemik içi defekt ve kraterler olarak ikiye ayrılmaktadır. Eğer defekt bir dişi etkiliyorsa kemik içi, komşu iki dişi etkilemişse krater olarak adlandırılmaktadır (Goldman ve Cohen, 1958).

Eğer apikalde kemik duvar sayısı okluzal kısımdaki kemik duvar sayısından daha fazla ise kombinasyon defekti olarak adlandırılmaktadır. Kase şeklinde olan komşu iki dişte dişler arası kemikte aynı miktarda kemik kaybı olan, bukkal ve lingual kemik seviyesinin aynı yükseklikte olduğu defektlere krater tarzı defektler denir

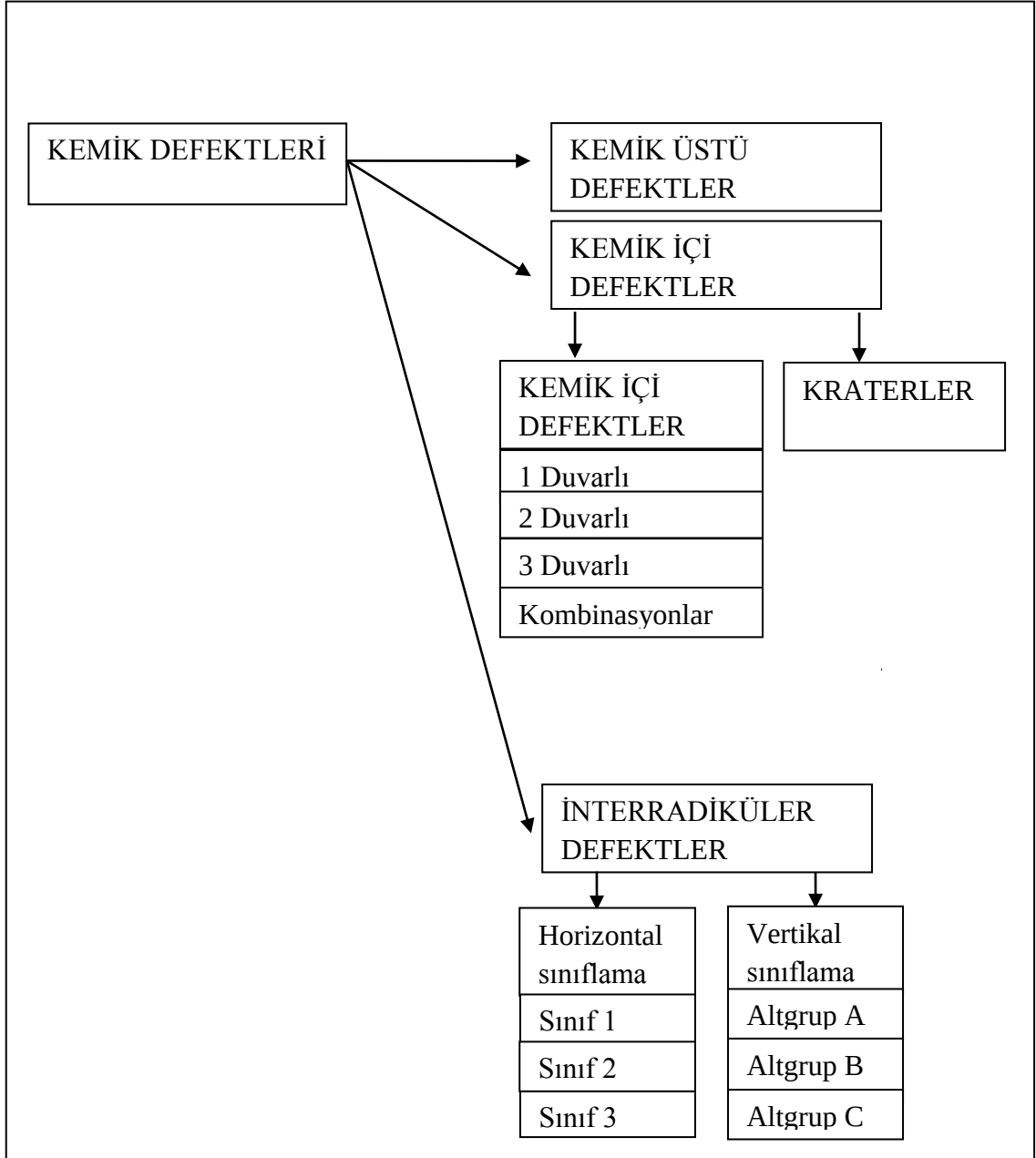
(“Glossary of periodontal terms”, 2001). Bu defektlerin komşu 2 dişin kökleri arası bölgesinde oluştuğu rapor edilmiştir (Papapanou ve Tonetti, 2000).

Çok köklü dişlerin furkasyon bölgesindeki kemiğin patolojik rezorpsiyonu sonucu oluşan defekte interradiküler defekt ya da furkasyon defekti denir (“Glossary of periodontal terms”, 2001). Furkasyon bölgesinde çok az kemik kaybı var ise sınıf 1, değişik derecelerde kemik kaybı var ama tüm furkasyon bölgesini kapsamıyorsa sınıf 2 ve tüm furkasyon boyunca kayıp var ise sınıf 3 olarak adlandırılmaktadır (Papapanou ve Tonetti, 2000).

Hamp ve ark. furkasyon bölgesinde yaptığı sınıflandırmaya göre; horizontal komponentte kayıp 3 mm ve daha az ise sınıf 1, 3 mm’den daha fazla fakat tüm furkasyon bölgesi boyunca ilerlemiyorsa sınıf 2 ve tüm furkasyon bölgesi boyunca ilerliyorsa sınıf 3 furkasyon defekti olarak adlandırılmaktadır (Hamp ve ark., 1975).

Tarnow ve Fletcher tarafından yapılan sınıflandırmada; vertikal komponentte 3 mm ya da daha az kayıp var ise alt sınıf A, 4- 6 mm arasında kayıp var ise alt sınıf B ve 7 mm ve daha fazla kayıp var ise alt sınıf C olarak adlandırılmıştır (Tarnow ve Fletcher, 1984).

Papapanou ve Tonetti’nin 2000 yılında yayınladıkları Şekil 1’de yer alan kemik defektleri sınıflandırması da esas olarak American Academy of Periodontology’nin Periodontoloji Terimler Sözlüğü’ne dayanmaktadır.



**Şekil 1.** Kemik defektlerinin sınıflandırılması (Papapanou ve Tonetti, 2000).

Periodontal hastalıkta kemik morfolojisini etkileyen faktörler 6 başlık halinde tanımlanmıştır:

1. Alveoler kemiğin normal anatomik yapısı:
  - Dişler arası bölgedeki septumun kalınlığı ve genişliği
  - Fasiyal ve lingual bölgedeki kemiğin kalınlığı
  - Fenestrasyon ve dehissens varlığı
  - Dişin alveoler krette dizilimi
  - Kök ve kök gövdesi anatomisi
  - Kemik yapı içinde kökün pozisyonu
  - Diğer diş yüzeyinin pozisyonu
2. Ekzostos varlığı
3. Oklüzyondan kaynaklı travma varlığı.
4. Destekleyen (Buttressing) kemik formasyonu
5. Gıda sıkışması
6. Agresif periodontitis (Carranza ve Takei, 2006).

Periodontal kemik defektlerinin tespitinde klinik muayene ve paralel film tekniği kullanılmaktadır. Teşhis amacıyla kullanılan periapikal radyografiler alveoler kemik rezorpsiyonunun morfolojisi hakkında bilgi vermektedir. Ağız içi röntgenler diş sert dokusu, yumuşak doku ve alveoler kemikten oluşan 3 boyutlu anatomik yapıların 2 boyutlu görüntülenmesini sağlamaktadır fakat anatomik yapıların birbirine süperpoze olması sonucu ileri kemik lezyonlarının görüntülenmesine engel olmaktadır (Benn, 1990). Klinik ataşman seviyesinin tespiti yüksek duyarlılığa sahip bir teşhis metodudur ve radyografi ile beraber kemik topografisinin anlaşılmasına yardımcı olmaktadır. Fakat esas kemik morfolojisinin operasyon sırasında flep kaldırıldıktan sonra ortaya çıktığı bildirilmiştir (Papapanou ve Wennström, 1989).

### **2.3. Periodontal Tedavi Basamakları**

Periodontal dokulardaki enfeksiyon periodontal hastalık olarak bilinmektedir ve ilk olarak bakteriyel enfeksiyondan etkilenmektedir. Etkileyen diğer faktörler ise genetik, yetiştirme, yaş, çiğneme alışkanlığı, genel sağlık, beslenme, lokal irritanlar, patojenik bakterilerin varlığı ve yararlı bakterilerin eksikliğidir. Etkili periodontal tedavide ödemli dokuların iyileştirilmesi ile bakteriler azalmaktadır. Bakterilerin azaltılması cerrahisiz periodontal tedavi, cerrahi tedavi veya ikisinin birleşimi ile

sağlanmaktadır (Cleland, 2000).

Periodontal hastalığa sahip bireylerde periodontal tedavi girişimleri 3 grupta toplanmaktadır (Cleland, 2000):

- Cerrahisiz periodontal tedavi: Gingivitisin kontrol altına alınması veya ortadan kaldırılması ve periodontal yıkımın daha fazla ilerlemesinin durdurulması amaçlanmaktadır.
- Cerrahi periodontal tedavi: Fonksiyon ve estetiğin restore edilmesi amaçlanmaktadır.
- İdame tedavisi: Periodontal hastalığın tekrar etmesini önlemek, var olan ve elde edilen periodontal sağlığı korumak amacıyla uygulanmaktadır.

Evde yapılan diş yüzeyi temizliği işlemleri ve supragingival plak kontrolü gingivitisin tedavisinde etkili bir yöntemdir. Derin ceplerin bulunduğu subgingival bölgedeki depozitlerin eliminasyonunda profesyonel tedavinin gerekli olduğu rapor edilmiştir. Subgingival enstrumantasyonda amaç kök yüzeyindeki mikrobiyal plağın ve depozitlerin uzaklaştırılarak düzgün kök yüzeyi elde etmek ve tekrar bakterilerin kolonizasyonuna engel olmaktadır (Lang, 2000). Yapılan bir çalışmada subgingival diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirmesi sonucu SCD'nin azaldığı ve klinik ataşman seviyesinin (KAS) idame edildiği bildirilmiştir (Caffesse ve ark., 1986). Nedene yönelik bir tedavi yaklaşımı olan cerrahisiz periodontal tedavi ileri periodontal hastalıkta değişik derecelerde fayda sağlamaktadır. Yapılan bir çalışmada diş yüzeyi temizliği, kök yüzeyi düzleştirmesi ve hasta motivasyonunu içeren cerrahisiz periodontal tedaviden 1 ay sonra SCD'de azalma; cep derinliği 4-6 mm olan hastalarda 1mm, cep derinliği 7-12 mm olan hastalarda 2 mm bulunmuştur. Cep derinliğindeki 0,5 mm azalma ödemin çözülmesi sonucu, diğer 0,5 mm'lik azalmanın KAK sonucu olduğu rapor edilmiştir (Morrison ve ark., 1980).

İleri periodontitis görülen hastalarda cerrahisiz periodontal tedaviden sonra iyileşmenin yetersiz olmasından dolayı cerrahi tedavi önerilmektedir (N P Lang, 2000).

Cerrahi Tedavinin Amaçları (Lang, 2000):

- Ceplerin eliminasyonu,

- Açık debridman ile kök yüzeyine ulaşmak,
- Yeni periodontal lifleri içeren yeni sement ve yeni alveol kemik oluşumu ile periodontal rejenerasyonun sağlanması,
- Yeni kemik oluşumu ile kemik defektlerinin iyileşmesidir.

Mukogingival çizgiye kadar uzanmayan horizontal kemik kaybının görüldüğü periodontal cepler gingivektomi ile elimine edilebilirken mukogingival çizgiye kadar uzanan kemik içi defektler flep operasyonu ile tedavi edilmektedir. Flep operasyonunun amacı; yeni ataşman oluşumu için uygun ortam yaratmaktır. Kemik içi defektlerinin tedavisi cerrahisiz ya da cerrahi sırasında yapılan diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesi işlemlerini içermektedir. Periodontal cerrahi tedavide kemik rezektif tedavisi ve/veya membran, biyolojik ajanlar ya da greft materyallerinin kullanıldığı rekonstrüktif tedavi uygulanarak kemik defektleri düzeltilmeye çalışılmaktadır (Trombelli, 2005).

American Academy of Periodontoloji'nin yaptığı tanımlamaya göre; dişleri destekleyen kemiği içeren periodontal cerrahiye kemik cerrahisi, uygun fizyolojik şekli sağlamak amacıyla destekleyen kemiği kaldırmadan yapılan kemik şekillendirilmesi işlemine osteoplasti ve kemiğin kesilerek çıkartılması işlemine ise ostektomi denir (Tatakis ve ark., 1999). Ostektomi periodontolojide periodontitisten kaynaklanan kemik deformitelerinin düzeltilmesi amacıyla yapılmaktadır ("Glossary of periodontal terms", 2001).

Osteoplasti destekleyen kemiğin uzaklaştırılmasına gerek olmayan henüz başlangıç aşamasındaki furkasyon lezyonlarında, kemik çıkıntılarının düzeltilmesinde, sıg bukkal ve lingual kemik içi defektlerinin düzeltilmesinde ve dişler arasındaki ince kemik çıkıntılarının düzeltilmesinde kullanılmaktadır. Ostektomi ise 1-2 mm derinlikten 3-4 mm derinliğe kadar uzanan kemik içi ve hemiseptal (1 duvarlı) defektlerde ve tersine kemik topografisinin olduğu bölgelerin düzeltilmesinde kullanılmaktadır. 4 mm ve daha derin kemik içi ve hemiseptal defektlerin düzeltilmesinde ise rekonstrüktif yöntem kullanılmaktadır (Carnevale ve Kaldahl, 2000).

Kemik defektinin morfolojisi kullanılacak tedavi yöntemini belirlemektedir. 1 duvarlı açıl kemik defektlerinde kemiğin rezektif cerrahi ile düzeltilmesi gerekirken, 3

duvarlı derin- dar kemik içi defektleri rekonstrüktif cerrahi teknikle düzeltilir ve 2 duvarlı kemik defektleri ise defektin durumuna göre rezektif ve rekonstrüktif yöntemle tedavi edilmektedir. Kemiğin rezektif cerrahisi cep derinliğinin azaltılmasında en kabul gören yöntemdir fakat diğer yöntemlere göre kemik ve ataşman kaybına neden olmaktadır. Kemik rezektif tedavisinin esas amacı periodontal hastalıktan zarar görmemiş kemik kısımlarına benzer olacak şekilde marjinal kemiğin şekillendirilmesidir ve kemik seviyesi ve şeklindeki düzensizlikler ile cerrahi sonrası cep derinliğinin idame edilemeyeceği durumlarda uygulanmaktadır. Bu teknik apikale konumlandırılan flep ile beraber yapılarak cep derinliğinin azalmasını ve dişeti sınırlarının düzenlenmesini sağlayarak idame edilebilir bir ortam yaratmaktadır. Bunun sonucunda cep derinliğinin azalması ile beraber hastanın plağı ve depozitleri uzaklaştırması kolaylaşmaktadır (Sims ve Ammons, 2006).

#### **2.4. Periodontal Tedavide Rejenerasyon**

Periodontal tedavi anlayışında en önemli amaç, kök yüzeyinde yeni oluşan semente yumuşak doku ataşmanının yeniden bağlanması ve kaybedilmiş kemiğin yeniden kazanılmasıdır. Bu da enflamasyon yüzünden hasar görmüş dişeti bağ dokusunun rejenerasyonunu, yeni sementin oluşumunu, kemik kaybının restorasyonunu ve en önemlisi açığa çıkmış kök yüzeyine bağ dokusu liflerinin tutunarak yeniden bağ dokusu ataşmanının oluşumunu içermektedir (Bartold ve ark., 2000) Patolojik olarak açığa çıkmış kök yüzeylerinde kollajen liflerinin tutunduğu yeni sement oluşumu ile birlikte oluşan bu yeni bağ dokusu ataşmanına “yeni ataşman” denir (Nyman ve ark., 1982; Carranza ve ark., 2006). Operasyon sonrasında, alveol kemiğinin koronalindeki dişetinin uzun bağlantı epiteli aracılığıyla kök yüzeyine tutunmasına ise “uzun bağlantı epiteli” denir (Carranza ve ark., 2006). Uzun bağlantı epiteli oluşumu ve yeni epitelyal bağlantının oluşumu, klinik sonuçlar ve sağlık açısından kabul edilebilir olsa da, dokuların orijinal form ve yapısı elde edilemediği için böyle bir iyileşme rejenerasyon değil “tamir” olarak kabul edilmektedir (Bartold ve ark., 2000). Tedavi sonucunda periodontal dokulardaki iltihap elimine edilmiş, daha ileri doku yıkımları engellenmiş, fakat periodontal dokuların rejenerasyonu söz konusu olmadığı için dokular özgün şekil ve yapılarına kavuşamamaktadır. Cerrahi işlem ile dişten ayrılmış yumuşak dokuların dişe yeniden bağlanması ise “re-ataşman” olarak adlandırılmaktadır. Dişeti diş

yüzeyinden kaldırıldığında, kollajen liflerin bir kısmı sement içinde gömülü kalarak yırtılmaktadır. Doku diş yüzeyine tekrar yerleştirildiğinde ise yırtılan fibrillerin karşı karşıya gelecek şekilde tamiriyle operasyon öncesi seviyede re-ataşman oluşmaktadır (Carranza ve ark., 2006).

Rejeneratif periodontal tedavi periodontitis ya da travma nedeni ile kaybedilen diş destek dokularının restorasyonudur. Rejenerasyon terimi kaybedilen ya da yaralanan dokuların yapı ve fonksiyon olarak tam olarak restorasyonunu ifade etmektedir. Periodontal rejenerasyonda yeni periodontal ligament, liflerinin içine girdiği yeni sement ve yeni alveol kemik ile beraber yeni ataşman oluşumu ile kaybedilen periodontal dokuların restorasyonu amaçlanmaktadır. Derin kemik içi defektler periodontal rejeneratif tedavinin klasik endikasyonunu oluşturmaktadır. Buna ilaveten büyük azı dişlerindeki değişik derecelerde furkasyon lezyonlarında, lokalize dişeti çekilmelerinde ve açığa çıkmış kök yüzeyinde rejeneratif periodontal tedavi uygulandığı bildirilmiştir (Ramseier ve ark., 2012).

Konvensiyonel periodontal tedavide risk faktörleri kontrol altına alınarak periodontal hastalığın ilerlemesi önlenir fakat rejeneratif işlemler ile kaybedilen alveoler kemik, periodontal ligament ve sementin tamir edilmesi amaçlanmaktadır (Cortellini, 2006). Geçmişten günümüze çeşitli yöntemlerle beraber rejeneratif biomateriyaller, sert ve yumuşak doku greftleri, YDR'de kullanılan bariyer membranlar kaybedilen diş destek dokusunun rejenerasyonunda kullanılmaktadır (Wang ve ark., 2005).

Periodontal rejenerasyonun; klinik olarak sondlama, radyolojik analiz, yeni oluşan kemiğin doğrudan ölçülmesi ve histolojik olarak değerlendirilebildiği rapor edilmiştir (Reddy ve Jeffcoat, 1999). Çoğu vakada klinik olarak çok başarılı olduğu düşünülse de histolojik olarak bakıldığında tedavi edilmiş kök yüzeyinde yeni oluşan sement ve periodontal ligament yerine uzun epiteliyal ataşmanın olduğu görülmüştür (Ramseier ve ark., 2012).

Kornman ve Robertson, periodontal kemik defektlerinin başarılı bir şekilde tedavi edilmesinde etkili olan temel faktörlerin ve bu 4 temel faktörü belirleyen başka spesifik faktörlerin bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu faktörler (Kornman ve Robertson, 2000):

- Bakteriyel kontaminasyon: Plak kontrolü, antibakteriyellerin kullanımı, sigara, diyabet, genetik, yaş.
- Başlangıç yara iyileşme potansiyeli: Genetik, diyabet, sigara, yaş.
- Lokal bölge özellikleri: Defekt morfolojisi, diş anatomisi, oklüzyon.
- Kullanılan cerrahi teknik: Kök yüzeyi preparasyonu, kullanılan aygıtlar, cerrahi yaklaşım, operatörün tecrübesidir.

Modifiye flep dizaynları, mikrocerrahi yaklaşımlar ile yumuşak ve sert doku rejenerasyonu sonuçları geliştirilmeye çalışılsa da çoğu vakada hala yetersiz sonuçlar alınmaktadır. Günümüzde birçok araştırmacı rejeneratif sonuçları geliştirmek için yeni bariyer membran teknikleri, hücrelerin büyümesini uyaran proteinler ve gen kökenli uygulamalar kullanmaktadır (Wang ve ark., 2005; Chen ve ark., 2009).

Periodontal dokular dişeti epiteli, bağ dokusu, periodontal ligament, alveoler kemik ve sementten oluşmaktadır. Bu periodontal dokular iyileşmenin şeklini belirlemektedir. Epiteldeki iyileşme sonucunda bağlantı epitelinin dentisyonu sarması istenmektedir; bağ dokusundaki iyileşme sonucunda ise hacim belirgin derecede azalarak dişeti çekilmesi ve periodontal ceplerin azalmasına neden olmaktadır. Periodontal ligament granülasyon dokusundan köken alarak sementoblastlar tarafından oluşturulan yeni sement üzerinde rejenere olmaktadır (Ramseier ve ark., 2012). Alveoler kemik ise bağ dokusundan köken alan mezenşimal hücrelerin KMP etkisi ile osteoprogenitör hücrelere dönüşmesi sonucu oluşmaktadır (Sykaras ve Opperman, 2003). Bağ dokusu ya da alveol kemiğinden köken alan granülasyon dokusu kök yüzeyi ile temasa geçerse kök rezorpsiyonu ya da ankiloz oluşmaktadır ve bu komplikasyonun rejeneratif periodontal tedaviden sonra oldukça sık görülmesi beklenmektedir. Fakat cerrahi işlem sonrası dento-gingival epitel kök boyunca apikale göç ederek koruyucu bariyer görevi görmekte ve kök rezorpsiyonunun nadir görülmesine neden olmaktadır. Periodontal rejenerasyonda periodontal ligament liflerinin rejenere olması ve kök yüzeyinde yeni oluşan sementin içine girerek yeni ataşman oluşturmaları istenmektedir. Yapılan çalışmalarda alveol kemiği ve bağ dokusunun yeni ataşman oluşturma kabiliyeti olmadığı gösterilmiştir. Bunun sonucunda rejenerasyonda periodontal ligamentin kritik öneme sahip olduğu ortaya konulmuştur (Gottlow ve ark., 1986). Periodontal rejenerasyonun meydana gelmesi için progenitör periodontal ligament

hücrelerinin kök yüzeyine göç etmeleri, çoğalmaları ve orada olgunlaşarak yeni oluşan sement içine girip fonksiyonel fibröz ataşman aparatını oluşturması gerekmektedir. Periodontal rejenerasyonun temelini o bölgede kalan sağlıklı hücelere ya da o bölgeye giden rejenerasyonu uyarma yeteneğine sahip hücelere bağı olduğu bildirilmiştir (Ivanovski, 2009).

Günümüzde bu amaç doğrultusunda çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bu teknikler (Ivanovski, 2009);

- Kemik greftleri (otojen greftler, allogreftler, ksenogreftler ve alloplastikler) uygulaması,
- YDR tekniğı uygulaması,
- Biyolojik mediyatörlerin (MMP türevleri, TZIP, büyüme faktörleri, sitokinler, KMP) uygulaması,
- Tüm bu materyallerin “kombine teknik” olarak birlikte uygulanmasıdır.

#### **2.4.1. Periodontal rejenerasyonda kemik greftleri**

Periodontal rejenerasyon amacıyla kemik greftleri kemik içi defektlerde kullanılmaktadır. Kemik greftleri, aynı bireyden (otojen), aynı türe ait farklı bireylerden (allogreft), farklı türlerden (ksenogreft) veya sentetik (alloplastik) olarak elde edilmektedir. Bu greftler, osteogenez, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon olmak üzere üç temel kemik oluşumu mekanizmasıyla rejenerasyonda rol oynamaktadır. Osteogenezde yeni kemik rejenerasyonu, greft içerisinde taşınan kemik şekillendirici hücelere tarafından meydana gelmektedir. Osteoindüksiyon, kemik oluşumunun uyarılmasıdır. Osteoindüksiyonda kemik grefti içerisinde yer alan moleküller komşu hücelere osteoblastlara dönüşmesini sağlayarak yeni kemik oluşumuna yol açmaktadır. Osteoindüktif greftler kemik rejenerasyonunu arttırmak için kullanılabilirler. Osteokondüksiyon, kemik greftinin uygun iskeletsel yapı veya fiziksel matriks oluşturarak osteoblastların ve mezenkimal hücelere greft bölgesine tutunabilmesine yardımcı olan fiziksel bir özelliktir. Osteokondüktif greft yüzeyde kemik büyümesini teşvik etmek için kemik varlığına ve mezenkimal hücelere gereksinim duymaktadır (Karring ve Lindhe, 2008).

Rejeneratif periodontal tedavide kullanılan kemik greftlerinden kemik oluşumunu arttırması ve periodontal hastalıklı kök yüzeyinde yeni kollajen liflerin girdiği sement oluşumunu uyarması beklenmektedir. Fakat hayvanlarda ve insanlarda yapılan bazı histolojik çalışmalarda greft işlemlerinden sonra yeni bağ dokusu ataşmanı yerine uzun bağlantı epiteli ile iyileşme görüldüğü bildirilmiştir (Caton ve Zander, 1976).

Kemik greftleri elde edildikleri kaynaklara göre dört gruba ayrılırlar. Otojen kemik greftleri bireyin kendisinden elde edilen greftlerdir. Osteogenezi uyararak doku reaksiyonu göstermemektedirler. Osteogenez, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon aşamalarından geçerek yeni kemiğe dönüşmektedir. Ağız içinden dişsiz bölgelerden, çekim soketinden, tüber bölgesinden, ramus ve retromolar alanlardan, ağız dışından ise iliak kemikten, kalvaryumdan, tibiadan ve kaburgalardan elde edilmektedir. Allogreftler aynı türden farklı genetik yapıya sahip bireylerden elde edilen kemik greftleridir. Allogreftlerin en önemli avantajı ikinci ameliyat bölgesine gereksinim duyulmadan istenen miktarda bulunmalarıdır. En önemli dezavantajı ise diğer bir bireyden alındıkları için, alıcıdan hastalık bulaşma riskidir. Bu nedenle birçok işlemde geçirilmektedir. Bu greft tipi dondurulmuş kemik allogrefti (DKA), dondurulmuş-kurutulmuş kemik allogrefti (DKKA) ve demineralize dondurulmuş-kurutulmuş kemik allogrefti (DDKKA) olmak üzere üç ana gruba ayrılmaktadır (Karring ve Lindhe, 2008).

DKKA mineralize formdadır ve osteokondüktiftir. Dondurma işlemi greftin antijenite riskinin azalmasını sağlamaktadır. Hayvanlarda yapılan bir çalışmada DDKKA konak hücrelerinin osteoblastlara dönüşmesini sağlayan KMP'yi uyararak kemik oluşumunu uyardıkları bulunmuştur (Mellonig, 1992).

Alloplastik greft materyalleri sentetik olarak elde edilen, inorganik ve biyouyumlu materyaller olup osteokondüktiftir. Rejeneratif periodontal tedavide kullanılan dört çeşit alloplastik materyal vardır. Bunlar hidroksiapatitler, betatrikalsiyum fosfat, polimerler ve biyoaktif camlardır. Hidroksiapatit ürünleri rezorbe olmayan seramik ürünler ve rezorbe olan seramik olmak üzere iki şekilde kullanılmaktadır. Alloplastik greft materyalleri defekt bölgesinde doldurucu olarak kullanılmaktadır. Alloplastik materyallerin kullanımı sonucu az miktarda kemik oluşumu rapor edilmesine rağmen kollajen liflerin girdiği yeni sement oluştuğunu

gösteren çalışma bulunmamaktadır (Karring ve Lindhe, 2008). 1996'da American Academy of Periodontology World Workshop'da, sentetik greft materyallerinin öncelikli olarak defekt doldurucu olarak görev yaptıkları, istenilen tedavi rejenerasyon ise farklı materyallerin kullanılması gerektiği bildirilmiştir (Garrett, 1996). Ksenogreftler, başlıca sığır kemiği ve doğal mercan olmak üzere farklı türlerden elde edilen kemik greftleridir. Farklı işleme teknikleri sayesinde, her iki kaynaktan da biyouyumlu ve yapısal olarak insan kemiğine benzer materyaller üretilmektedir (Karring ve Lindhe, 2008).

Meyle ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defekte sahip hastaların bir grubuna MMP ve sentetik kemik grefti, diğer gruba ise sadece MMP uygulanmıştır. Tedaviden 12 ay sonra yapılan klinik ve radyolojik değerlendirmelere göre her 2 grupta da anlamlı klinik sonuçlar elde edilmiş ve 2 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Meyle ve ark., 2011).

Femminella ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defekte sahip hastanın bir dişi damaktan alınan otojen periostal membran ve otojen kemik grefti ile tedavi edilmiştir. Tedaviden 12 ay sonra klinik ve histolojik olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuca göre defekt tamamen kemik ile dolmuş ve 4 mm KAK elde edilmiştir. Histolojik olarak kollajen liflerin girdiği yeni sement oluştuğu görülmüştür (Femminella ve ark., 2012).

Chitsazi ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 2 ya da 3 duvarlı kemik içi defekte sahip hastalarda bir grup hastaya otojen kemik grefti diğer gruba ise otojen kemik grefti ve nanokristalin hidroksiapatit uygulanmıştır. 6 ay sonra klinik olarak değerlendirilmiş ve her iki grupta da anlamlı klinik sonuçlar elde edilmiş ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Chitsazi ve ark., 2011).

#### **2.4.2. Kök yüzeyi biyomodifikasyonu**

Periodontal hastalık sonucu kök yüzeyi bakteriyel endotoksinlerle kontamine olmaktadır. Endotoksin kontaminasyonu sement-dentin birleşimine ve dentine kadar ulaşabilmektedir. Buna bağlı olarak sementin tamamen uzaklaştırılması bile etiyolojik faktörlerin tam olarak elimine edilmesine yetmemektedir. Ek olarak kök yüzeyinde enstrümantasyondan sonra smear tabakası oluşmakta ve tüm bu değişiklikler

periodontal rejenerasyonun meydana gelmesine engel olmaktadır. Kök yüzeyinde yeni ataşman oluşması için bakteriyel depozitlerin, diştaşının ve endotoksinlerin uzaklaştırılması temel faktör olmaktadır. Kök yüzeyi demineralizasyonu sonucu dentindeki kollajen lifler açığa çıkarak komşu dokudaki mezenşimal hücrelerin sementoblastlara farklılaşması kolaylaşarak sement oluşumu meydana gelmektedir. Dentin matriksi içindeki kollajen liflerin açığa çıkması kök yüzeyinde kan pıhtısının adezyonunu ve fibroblastların göçünü kolaylaştırmaktadır (Karring ve Lindhe, 2008). Kök yüzeyi biyomodifikasyonu amacıyla sitrik asit, fibronektin ve tetrasiklin gibi birçok materyal uygulanmaktadır (Carranza ve ark., 2006).

Yapılan birçok çalışmada diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesi işlemlerinden sonra sitrik asit, fibronektin ve tetrasiklin uygulanmıştır. Tüm bu çalışmalar ışığında sitrik asit uygulanması sonucu;

- Yeni sement oluşumunu ve iyileşmenin hızlandığı,
- Kök yüzeyi düzleştirmesinden sonra 4 µm derinliğinde demineralizasyon tabakası oluşarak kollajen lifler açığa çıktığı,
- Kök yüzeyindeki smear tabakası uzaklaştırarak, dentin tübüllerinin açığa çıkarak tübüllerin genişlemesine neden olduğu,
- *İn vitro* ortamda hastalıklı kök yüzeyinden endotoksin ve bakteriyellerin elimine edildiği,
- Epitelin kök yüzeyine göçüne engel olunduğu rapor edilmiştir (Carranza ve ark., 2006).

#### **2.4.3. Periodontal rejenerasyonda büyüme faktörleri**

Periodontal rejenerasyonun sağlanması için periodontal ligament hücrelerinin çoğalması ve göçü, ekstrasellüler matriks sentezi ve hücrelerin sementoblast ve osteoblastlara farklılaşması gerekli olmaktadır (Karring ve Lindhe, 2008). Büyüme faktörleri çoğalma, kemotaksis, farklılaşma ve ekstrasellüler matriks sentezi gibi birçok hücrel aktiviteyi uyaran polipeptid hormonlardır (Terranova ve Wikesjö, 1987).

Kemik içi defekte sahip köpeklerde yapılan bir çalışmada test grubuna trombosit kaynaklı büyüme faktörü (TKBF) ve insülin benzeri büyüme faktörü (İBF) uygulanmış

ve kontrol grubuna ise hiçbir büyüme faktörü uygulanmamıştır. Çalışmanın sonucunda kontrol grubunda uzun birleşim epiteli ile iyileşme görülmüş ve yeni kemik ve sement oluşmamıştır. Test grubunda ise yeni ataşman oluşumu görülmüştür (Lynch ve ark., 1991). İnsanlarda periodontal kemik içi defekte ve sınıf 2 furkasyon defektine sahip dişlere TKBF ve İBF uygulanmış ve 9 ay sonra büyüme faktörü uygulanmış grupta belirgin derecede anlamlı kemik dolumu gözlemlenmiştir (Howell ve ark., 1997). Diğer bir çalışmada alt çenede sınıf 2 furkasyon defektine sahip dişlere TKBF, kemik grefti ve YDR uygulanmıştır. Tedavinin sonucunda büyüme faktörlerinin periodontal rejenerasyonda pozitif etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Lekovic ve ark., 2003).

KMP mezenşimal hücreleri uyarak kemik oluşturan hücelere çeviren osteoindüktif proteinlerdir. Köpeklerde cerrahi olarak yaratılan periodontal defektlere KMP uygulanmış ve histolojik analiz sonucu yeni sement ve kemik oluşumu gözlemlenmiştir (Sigurdsson ve ark., 1995).

## **2.5. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu**

İlk olarak Melcher, periodontal cerrahi uygulamasını takiben, yara bölgesini dolduran hücrelerin (epitel, bağ dokusu, alveol kemiği ve periodontal ligament) meydana gelecek iyileşmenin niteliğini belirlediğini bildirmiştir (Melcher ve ark., 1987). Bu tarihten sonra YDR 1982 yılında ilk olarak Nyman ve ark. tarafından selüloz asetat (Milipore)'ın bariyer membran olarak kullanılması sonucu başlamıştır. Bu çalışmada, ümitsiz olarak tespit edilmiş ileri derecede ataşman kaybı bulunan bir dişin tedavisinde, operasyon sırasında fiziksel bariyer yerleştirilerek, epitel ve bağ dokusu hücrelerinin kürete edilmiş kök yüzeyine ulaşmaları engellenmiştir. 3 ay sonra elde edilen biyopsi örneğinde yapılan histolojik incelemede, kök yüzeyinde yeni sement ve yeni bağ dokusu ataşmanı görülmüştür. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde, flep operasyonu sırasında bariyer membran kullanımının periodontal ligamentten kaynaklanan hücrelerin kök yüzeyi boyunca göç etmesine imkan tanıyarak yeni ataşman oluşumunu sağladığı gösterilmiştir (Nyman ve ark., 1982). Daha sonra 1980'li yıllarda bazı araştırmacılar tarafından derin kemik içi defektlerde YDR'nin klinik ataşman ve kemik kazancı sağladığı ve SCD'yi azalttığı ortaya konulmuştur (Gottlow ve ark., 1986; Becker ve ark., 1988; Schallhorn, 1988; Cortellini ve ark., 1990). Bu çalışmalar

periodontolojide yeni bir yaklaşımın ortaya çıkmasına neden olmuştur. Fakat daha sonra yapılan klinik çalışmalarda YDR'nin biyolojik konseptini uygulama zorlukları ve sonuçlarının birçok faktörden etkilenmesi sonucu klinik uygulamalarda istenilen sonuçlar elde edilememiştir.

1993 yılında 40 adet kemik içi defektin rezorbe olmayan expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) membran ile tedavi edilmesi YDR için bir dönemeç noktası olmuş ve iyileşmeyi etkileyen dokuların yara bölgesinden uzak tutulması sağlanmıştır (Cortellini ve ark., 1993). Yapılan çalışmalarda YDR'de başarının hastaya, hekime ve bölgeye bağlı olarak değiştiği ortaya konulmuştur. 1997 yılının sonlarında araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar sonucu elde edilen verilere göre YDR uygulanması sonucu klinikte kabul edilebilir sonuçlar elde edildiği rapor edilmiştir (Cortellini ve Tonetti, 2000). Tüm bu yapılan çalışmalar ışığında YDR tekniği günümüzde “bariyer membranın kök yüzeyi ile dişeti bağ dokusu arasına yerleştirilmesiyle, rejenerasyon gelişimini engelleyen dişeti epiteli ve bağ dokusu hücrelerinin defekt bölgesine göç etmesinin önlenmesi ve uygun boşluk oluşturularak rejenerasyon kapasitesine sahip periodontal ligament ve alveol kemiği hücrelerinin göç etmesine izin verilmesi” olarak tanımlanmaktadır (Karring ve Lindhe, 2008).

Epitelin kök boyunca göç etmesi sonucu periodontal ligament ve sement rejenere olmadan dişeti epiteli periodontal ligamentin seviyesine ulaşarak uzun birleşim epiteli ile iyileşme görülmektedir. Bu duruma engel olmak için membranlar kullanılarak YDR uygulaması ile periodontal ligamentten köken alan granülasyon dokusu hücrelerine yeterli boşluk yaratılarak yeni sement ve periodontal ligament oluşumu hedeflenmiştir (Ramseier ve ark., 2012).

Tüm yapılan çalışmaların sonuçlarından yola çıkarak bariyer düşüncesinin asıl amacının, periodontal rejenerasyonu kolaylaştıracak olan seçilmiş hücre popülasyonunu kök yüzeyinde toplamak olduğu bildirilmiştir. İnsan çalışmalarında ilk olarak milipor filtrelerin kullanılması, ePTFE'den yapılmış materyallerin bu konuda ilk sıraya yerleşmesine neden olmuştur. Maymunlarda yapılan deneysel çalışmaya göre YDR'nin yeni sement ve kemik oluşumunu uyarma kabiliyetine sahip olduğu bildirilmiştir (Amar ve ark., 1997). İkinci jenerasyon YDR membranı ise rezorbe olabilen kollajen, polilaktik ve sitrik asitten yapılan membranlardır ve bu membranların kullanılması ile 2.

cerrahi operasyon ile tekrar membranın ortadan kaldırılmasına gerek kalmamaktadır (Zeichner-David, 2006). Son yapılan çalışmalara göre kemik içi ve furkasyon defektlerinin tedavisinde YDR açık flep debridmanına göre daha başarılı bulunmuştur. Jepsen ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada alt ve üst çene sınıf 2 furkasyon defektlerinde horizontal furkasyon derinliğinin, horizontal ve vertikal ataşman seviyesinin ve SCD'nin azalmasında YDR açık flep debridmanına göre daha etkili bulunmuştur (Jepsen ve ark., 2002). Furkasyon defektlerinde greft materyallerinin bariyer membranlar ile kullanılması sadece bariyer membranların kullanılmasına göre daha etkili bulunmuştur (Kostopoulos ve Karring, 2004). YDR ile elde edilen periodontal rejenerasyonun 2 aşamada olduğuna inanılmaktadır. İlk faz kan pıhtısının oluşması, kök rezorpsiyonu/ demineralizasyonu, hücresiz sementin kök yüzeyinde birikmesi ve bağ dokusunun oluşmasıdır. İkinci faz ise remodeling sürecinden oluşmaktadır ve sementin rejenerasyonu ile sonuçlanmaktadır (Graziani ve ark., 2005).

Yapılan çalışmalar sonucunda YDR'nin periodontal rekonstrüktif cerrahide başarılı bir tedavi olduğu bildirilmiştir (David, 2006). Otojen kemik greftleri yıllardır kemik defektlerinde kullanılmaktadır ve farklı tedavi yaklaşımları sunmaktadır. Yapılan histolojik çalışmaya göre DDKKA kemik defektlerinde yeni ataşman aparatının oluşumunu desteklemektedir fakat alloplastik greftler rejenerasyondan çok tamire neden olmaktadır ve kemik greftleri ile bariyer membranların birlikte kullanıldığı tedavilerin en iyi tedavi yöntemi olduğu bildirilmiştir. Bu tedavi yöntemleri alveoler kemik yüksekliği ve periodontal ligament tamirini desteklemektedir fakat sementogenezisi desteklememektedir. Bunun sonucunda periodontal dokuların tam olarak rejenerasyonu tamamlanamamaktadır (David, 2006).

Etkinlik ve güvenilirlik vücutta kullanılacak olan materyallerden beklenen iki özelliktir. Güvenlilik *in vitro* ve *in vivo* olarak biyouyumluluk anlamı taşımaktadır. Biyouyumluluk ise materyalin kendine özgü konak cevabı oluşturabilme yetisidir. Yani ne materyal ne de vücut karşılıklı olarak birbirini etkilememektedir (Williams, 2008). Etkinlik materyalin organ ve doku özelliklerine ve özel amaca göre değişen bazı kriterleri sağlayabilmesidir. YDR kullanılacak materyallerin tasarım kriterleri ve özellikleri Scantlebury, Gottlow ve Hardwick tarafından belirlenmiştir. YDR'de kullanılacak materyallerin tasarım kriterleri (Gottlow, 1993; Scantlebury, 1993;

Hardwick ve ark., 1995)

- Biyouyumluluk
- Hücre seçiciliği
- Hücre göçü için boşluğu oluşturma
- Doku entegrasyonu
- Kullanımı kolaylığı
- Biyolojik aktivite

Biyouyumluluktan sonra ilk tasarım kriteri doku ya da hücreleri dışarıda tutabilme yetisidir. Hücre seçiciliğinde bariyer flebin yara bölgesindeki fibrin pıhtısından uzaklaşmasını sağlamaktadır. Bariyerin yapısı ve defekt bölgesine nasıl adapte olduğu rejenere olmuş dokuyu izole edebilme yetisini etkilemektedir (Tatakis ve ark., 1999). Üçüncü tasarım kriteri rejenere olmuş alveoler kemik, periodontal ligament ve sement için yeterli boşluk sağlayabilmesidir. Boşluk korunmasında uygulanan materyal flebin kendisinden kaynaklı ya da çiğneme gibi diğer faktörlerden flebe iletilen kuvvetlere karşı koyacak mekanik ve yapısal özelliklere sahip olmalı ve aynı zamanda yumuşak dokunun yara bölgesine çökmesine engel olmalıdır. Dördüncü olarak bariyerin epitel göçünün engellenmesi ve yaranın stabilizasyonunu sağlayan doku entegrasyonu özelliğine sahip olması gerekmektedir. Doku entegrasyonu aynı zamanda hücre tutulmasının başarılmasını da beraberinde getirmektedir. Flebin stabilizasyonu sonucu oluşan doku entegrasyonu yaranın bozulmasına ve yara bölgesinde epitelizasyona engel olmaktadır. Yara bölgesinin stabilizasyonu ve epitel göçünün engellenmesi sonucu bağ dokusu ataşmanında artış görüldüğü bildirilmiştir (Haney ve ark., 1993). Son olarak kullanılan bariyerin kullanım kolaylığına sahip olması gerekmektedir. Kullanım kolaylığı bariyerin uygulanması sırasında istenmeyen zorlukların oluşmasını engeller ve işlemin tamamlanması için gerekli olan zamanın elde edilmesini ve hekimin diğer kritik faktörlere odaklanmasını sağlamaktadır (Tatakis ve ark., 1999).

Hammerle ve Quinones tarafından periodontal rejenerasyonda kullanılacak ideal bariyer membranın taşınması gereken özellikler şu şekilde özetlenmiştir (Quinones ve Caffesse, 1995; Hammerle ve Jung, 2003):

- Epitel göçünü önleyerek yara iyileşmesinde stabil bir bölge oluşturmali,

- Doku entegrasyonunu sağlayabilmek için mikropöröz yapıda olmalı,
- İstenen hücre tiplerinin yara bölgesinde repopülasyonunu sağlamalı, istenmeyen hücrelerin repopülasyonunu engellemeli,
- Manipülasyonu ve şekillendirilmesi, defekte uygun bir şekilde adaptasyonu ve çıkarılması kolay olmalı,
- Altındaki dokuların gelişimine olanak tanıyacak yeterli boşluğu oluşturmali ve bu boşluğu iyileşme süresi tamamlanincaya kadar korumalı,
- Biyouyumlu olmalı;
- Toksik olmamalı, biyolojik fonksiyonlara zarar vermemeli ve minimal iltihabi cevap oluşturmali veya hiç oluşturmamalıdır.

Bu kriterlere ilave olarak rezorbe olan bariyer membranların taşınması gereken özellikler şunlardır (Gottlow, 1993):

- Membran uygulanmasından sonra oluşan doku reaksiyonu minimum olmalı,
- Oluşan reaksiyonlar geri dönebilir olmalı,
- Rejenerasyonu olumsuz etkilememelidir.

### **2.5.1. Rezorbe olmayan bariyer membranlar:**

Rezorbe olmayan bariyer membranlar klinikte ilk olarak kullanılan materyallerdir. Dokuya yerleştirildiği andan itibaren yapısal bütünlüğünü ve sonuç olarak yapısal özelliklerini korumaktadır. Yapısındaki ve dizaynındaki bu stabilite hekime uygulama kolaylığı ve materyale etkinlik kazandırmaktadır. Rezorbe olmayan membranların doğası gereği uzaklaştırılmaları için 2. cerrahi işlem gerekmektedir. İlave cerrahi işlemin uygulanması hastanın uyumu, yeterli zaman, yeterli maliyet gerektirmektedir. Bariyer membranın fonksiyonu geçici bir süredir ve membran ile dokunun bütünlüğü mükemmel olmasına rağmen bakteriyel kontaminasyon riskine karşılık olarak süresi dolduğu zaman çıkartılması gerekmektedir (Tatakis ve ark., 1999).

Rezorbe olmayan materyallerin çoğu polytetrafluoroethylene (PTFE) veya ePTFE'den yapılmıştır. PTFE biyolojik uyumluluğu ve inertliği ile florokarbon polimeridir. Solid PTFE poröz değildir ve aynı zamanda dokunun içine büyümesine izin vermeyerek yabancı doku reaksiyonu oluşturmamaktadır (Usher ve Wallace, 1958).

ePTFE kimyasal yapı olarak PTFE ile aynıdır. ePTFE çeşitli dokularda minimum enflamatuvar reaksiyon oluşturmaktadır. Uygun şekilde tasarlandığında içine doku büyümesine izin vermektedir ve yaklaşık 20 yıldır vasküler greft materyali olarak kullanılmaktadır. ePTFE üretim sırasında PTFE'nin gerilim kuvvetlerine maruz bırakılmasıyla fiziksel yapısında değişiklikler oluşması sonucu oluşturulmuştur. Solid düğümler ve fibrillerden oluşan poröz bir yapıya sahiptir. Fibrillerin optimal boyutları ve düğümler arası mesafe uygulama için tercih edilecek materyalin tipine göre değişmektedir (Campbell ve ark., 1975). ePTFE membranlar YDR'de ilk kullanılan geniş uygulama alanları olan ve kemik rejenerasyonunda 'altın standart' olarak kabul edilen bir materyaldir. ePTFE membranlar yüksek stabiliteye sahip polimerden oluşmaktadır. Mikroorganizmalar ve konak tarafından parçalanmaya karşı koymaktadır ve immunolojik reaksiyon oluşturmamaktadır (Hammerle ve Jung, 2003).

Eğer büyük bir kemik defekti var ise ePTFE membranlar boşluğa korumada yetersiz kalmaktadır. Alternatif olarak membranın titanyum ile güçlendirilmesi ile mebranın stabil formu korunmaya çalışılmıştır. Titanyum ile güçlendirilmiş ePTFE membranlar titanyum çerçeve ile birleşmiş 2 kat ePTFE 'den oluşmaktadır (Hammerle ve Jung, 2003).

Gore-tex bir ePTFE materyaldir ve spesifik ihtiyaçlara cevap verebilmek için 2 yapısal tasarıma sahiptir. Materyalin koronal kısmının mikro yapısı incelendiğinde bağ dokusunun büyümesini, yaranın stabilizasyonunu sağlayarak epitelin apikale göçüne engel olduğu gösterilmiştir. Materyalin bu kısmı 1.00 mm kalınlıkta, düşük yoğunlukta (0,2 g/ml) ve % 90 poröz ePTFE'dir. Materyalin geri kalan apikal kısmı bariyer görevi görerek boşluk oluşturarak flep dokusunun invazyonuna ve kök yüzeyine kollapsına engel olmaktadır. 0,15 mm kalınlık, yüksek yoğunluk (1,5g/ml) ve % 30 poröz ePTFE'dir (Scantlebury, 1993). Bütün ePTFE kökenli materyallerin rejeneratif potansiyeli pek çok insan ve hayvan çalışmasında gösterilmiştir (Haney ve ark., 1993).

İnsan çalışmalarından elde edilen histolojik çalışmalara göre ePTFE membranlar ile 3 aylık iyileşme periyodunu takiben yeterli miktarda periodontal rejenerasyon meydana geldiği bildirilmiştir (Gottlow ve ark., 1986). Diğer bir çalışmada cerrahiye takiben 6. ayda yeni sement içine gömülmüş liflerin olduğu gösterilmiştir (Cortellini ve ark., 1993). ePTFE membranların kullanımı ile konvansiyonel periodontal cerrahiye

göre ağrı, püy oluşumu, soyulma ve şişlik gibi minör komplikasyonların daha çok görüldüğü bildirilmiştir (Murphy, 1995).

Gore-tex periodontal membran titanyum ile güçlendirilerek zaman içinde modifiye edilmiştir. İki ePTFE tabakasının arasına yerleştirilen titanyum destek sayesinde membranın yüzey özellikleri korunup, mekanik sertliği artırılmıştır (Tatakis ve ark., 1999). Bu rijidite sayesinde boşluk oluşturma ve koruma özelliği de artırılmıştır. Supra alveoler periodontal defekte sahip hayvan modellerinde titanyum ile güçlendirilmiş teflon mebranların uygulanması ile 2 ay sonra kemik ve sement rejenerasyonu görülmüştür (Sigurdsson ve ark., 1994).

Yoğun poröz olmayan ePTFE membrandan yapılan materyal (TefGen-FD) farede oluşturulan defektlerde uygulanmış ve ePTFE membranlar ile karşılaştırılmıştır. Limitli doku integrasyonu dışında benzer sonuçlar görülmüştür (Crump ve ark., 1996).

ePTFE membranlardan başka rezorbe olmayan diğer materyallerde incelenmiştir. Rubber-dam ile yapılan çalışmaların yanında rezin iyonomer bariyerlerde kullanılmıştır. Bu 2 materyal YDR de kullanılan materyallerin dizayn kriterlerinin hepsine sahip olmamaktadır (Salama ve ark., 1994). Rubber-dam manüplasyonu zor, doku entegrasyonu olmayan ve rijititesi az olan ve boşluk oluşturabilen bir materyaldir. Rezin iyonomer bariyerler ise boşluk oluşturabilen, in situ üretimi zor olan bir materyaldir. İnsanlar üzerinde yapılan histolojik çalışmada rezin iyonomer bariyerlerin lokal enflamatuvar cevap oluşturduğu bildirilmiştir (Nadarajah ve ark., 1997).

Nagarale ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada alt anterior bölgede kemikiçi defekte sahip hastaya rubber-dam membran uygulanmış ve hasta 3 yıl takip edilmiştir. Tedavi sürecince hastada herhangi bir enflamasyon görülmemiş ve tedavi sonunda SCD’de azalma elde edilmiştir (Nagarale ve ark., 2012).

Hayvan modellerinde yarı geçirgen silikon membran üzerine mekanik olarak bağlanmış örgü naylondan üretilmiş ve kollajen peptidlerle kaplanmış bir membran (BioBrane) ile çalışılmıştır. Dokular tarafından iyi tolere edilmiş fakat belirsiz rejeneratif sonuçlar görülmüştür. Boşluk oluşturma özelliği konusunda da başarılı sonuçlar elde edilmemiştir (Aukhil ve ark., 1986).

Rezorbe olmayan bariyer membranların operasyondan 4-6 hafta sonra ikinci bir cerrahi işlem ile bulundukları yerden çıkarılmaları gerekmektedir. Bu işlem hastanın uygulamayı kabulünü güçleştirdiği gibi hem hasta hem de hekim için zaman kaybına neden olmaktadır. Aynı zamanda bariyerin çıkarılması sırasındaki travma, membran altında oluşan yeni dokunun hasar görmesine yol açmaktadır (Hammerle ve Jung, 2003).

Membran uygulandıktan sonra sık görülen komplikasyonlar membranın açığa çıkması ve enfekte olmasıdır. Yapılan klinik araştırmalar ve hayvan çalışmalarına göre yaranın açılarak membranın açığa çıkması sonucu oluşacak kemik rejenerasyon miktarının bozulduğu bildirilmiştir (Piattelli ve ark., 1996). Yaranın iyileşme döneminde ilk 3 hafta içinde açılmasının membranın enfekte olduğunun en büyük nedeni olduğu gösterilmiştir (Becker ve ark., 1991). Rejenerasyon amacıyla e-PTFE membranların kullanıldığı çalışmalarda, yeni sement içine gömülmüş liflerin cerrahiye takiben 6. ayda mevcut olduğu gösterilmiştir (Cortellini ve ark., 1993).

Yapılan araştırmalarda ePTFE membranlarla başarılı sonuçlar alınmasına rağmen tüm bu sorunların ortadan kaldırılması amacıyla dokularla biyolojik olarak uyumlu rezorbe olan membranlar geliştirilmiştir. Rezorbe olan membranların en önemli özelliği ikinci bir cerrahi işlem gerektirmemeleridir. Bu özellik hem hasta açısından avantajlıdır, hem de yeniden oluşmaya başlayan periodontal dokuların membran çıkartılırken hasara uğramasını engellemektedir (Quinones ve Caffesse, 1995; Schlegel ve ark., 1997).

### **2.5.2. Rezorbe olan bariyer membranlar**

Rezorbe olan bariyer membranlar ikinci cerrahiye gerek duymayan, hastanın rahatsızlık hissini azaltan, hastanede geçirdiği zamanı ve dolayısıyla maliyeti azaltan materyalledir. Doğası gereği uygulama süresince sınırlı şekilde kontrol edilebilmektedir. Bu durum uygulandığı anda parçalanma süresinin başlaması, biyomateriyalin bireysel farklılıklara bağlı olarak parçalanmasının farklı olmasından kaynaklanmaktadır (Tatakis ve ark., 1999). Yapılan *in vivo* çalışmada rezorbe olabilen materyallerin yapısını en fazla 4 hafta koruyabildiği gösterilmiştir (Minabe, 1991).

Parçalanma özelliklerinden dolayı rezorbe olabilen materyaller yara iyileşmesinin etkilenmesine neden olacak şekilde doku reaksiyonu oluşturabilmektedir. Esas olarak ideal olan bu enflamatuvar reaksiyonun beklenen rejeneratif sonucu etkilememesidir. Bu tip reaksiyonlar erken iyileşme döneminden sonra olduğu için tolere edilerek çok büyük önem teşkil etmemektedir (Tatakis ve ark., 1999).

Rezorbe olan materyaller doğal ve sentetik olarak 2'ye ayrılmaktadır. Doğal polimerler; polisakkaritler (çitosan) ve polipeptidlerden (kollajen ve jelatin), sentetik polimerler; ise polilaktik asit (PLA) ve poliglikolik asitten (PGA) oluşmaktadır (Shue ve ark., 2012).

Kollajen kolay temin edilebilmesi ve uygun biyolojik ve fiziksel özelliklerinden dolayı biyomedikal materyallerin üretiminde yaygın olarak kullanılmıştır. Vücuttaki bütün proteinlerin 1/3'ünü oluşturmaktadır. Bugüne kadar 19 tip kollajen tespit edilmiştir. Tip 1 kollajen en yaygın olandır ve fibriller forma sahiptir. Kemik, tendon ve deri gibi dokular başlıca tip 1 kollajen içermektedir (Tatakis ve ark., 1999). Kollajen dişeti bağ dokusunun % 60'ını, kemikteki proteinlerin % 90'ını oluşturmaktadır (Schroeder ve ark., 1973).

İntrinsik kollajen yumuşak doku ve yara iyileşmesine eşlik etmektedir (S. Liu ve ark., 1995). Ekzojenöz kollajen hemostatik etki göstermektedir, nötrofil ve fibroblastları aktive ederek yara iyileşmesi ve yeniden şekillenme sürecinde çeşitli hücrelerle etkileşmektedir. Bu biyolojik aktiviteler düşük immünite ile birleştiğinde kollajeni tercih edilen materyal yapmaktadır (Kleinman ve ark., 1981). Sığır kollajeni kullanılması ile çeşitli patolojilerin taşınma ihtimaline karşı kollajen materyalinin güvenilir olduğu ve YDR'de kullanılabilir olduğu sonucuna varılmıştır (Tatakis ve ark., 1999).

YDR'de kollajen membranın etkileri birçok hayvan çalışmasında araştırılmıştır. Sığır kollajen membranı 8 haftada rezorbe olmaktadır ve fare kuyruk kollajeni cerrahiden sonra 4 haftada rezorbe olmaktadır. Membran uygulanması sonucu oluşan kronik enflamatuvar infiltrat rezorpsiyonun erken safhalarında görülmektedir ve zamanla azalmaktadır (Pitaru ve ark., 1988).

Chen ve ark. tarafından kollajen bariyerin özellikleri incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre kollajen yapıdaki bariyer membran iyileşen bağ dokusu ile birleşerek, 6-8 haftada makrofajlar tarafından parçalanmaktadır. Dişeti ve periodontal ligamentten gelen fibroblastlar için kemotaktik olarak işlev görmektedir. Trombositlerin bağlanması için trombojenik yüzey oluşturmaktadır (Chen ve ark., 1995). Aynı zamanda zayıf immüniteye neden olarak dişeti kalınlığının augmentasyonunda sağlamaktadır (Bunyaratavej ve Wang, 2001).

YDR'de sığır fleksör tendonundan köken alan tip 1 kollajen çeşidi membran olarak kullanılmaktadır. Bu membran yarı geçirgendir (por boyutu 0,004 mm) ve 4 ile 8 hafta arasında tamamen rezorbe olmaktadır. Yapılan klinik çalışmalarda membranın performansı tedavi edilen defekt tipine göre değişiklik göstermektedir. Bu membranın değişen performansı boşluk korumadaki sınırlı etkisinden kaynaklanmaktadır (Shieh ve ark., 1997). YDR'de dana perikardiyumundan yapılan tip 1 kollajen çeşidi de membran olarak kullanılmıştır. Yapılan histolojik çalışmalara göre belirgin derecede enflamatuvar reaksiyon oluşturarak 2 hafta içinde rezorbe olmaktadır. Bunun sonucunda düşük rejenerasyon yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (Crigger ve ark., 1996). Sığır derisinden yapılan mikro fibrillere sahip hemostatik kollajen çeşidi (Avitene) membran olarak insan çalışmaları kullanılmıştır. Yapılan histolojik bulgulara göre bu kollajen çeşidinin uygulanmasının zor olduğu ve YDR'de etkili olmadığı bulunmuştur (Tanner ve ark., 1988).

YDR'de kullanılan diğer doğal ürünler duramater, oksidize selüloz ve laminer kemiktir (Scott ve ark., 1997; Tatakis ve ark., 1999). Duramater kadavradan elde edilmektedir. Kollajen fibrillerin düzensiz dizilmesinden oluşmaktadır. İnsan biyopsilerinden elde edilen histolojik çalışmalar cerrahinin 2. haftasında sınırlı doku integrasyonu ve enflamatuvar cevap oluştuğu ve epitelin apikale göçünü inhibe ettiği gösterilmiştir. Materyalin büyük çoğunluğu cerrahinin 6. haftasında rezorbe olmaktadır. Klinik çalışmalarda duramaterin rejenerasyonda sınırlı potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Yukna, 1992).

Lim ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada YDR'de perikardium kaynaklı bariyer membran ile mineralize kemik greftleri kullanılmıştır. Bariyer membran ile kemik greftinin beraber kullanıldığı grupta sadece kemik greftinin kullanıldığı gruba

göre rejenerasyon açısından daha iyi sonuçlar elde edilmiştir (Lim ve ark., 2011).

Köpeklerde dehissens tip defektlerde yeni geliştirilen çitosan-kollajen membran uygulanmıştır. Çitosanın biyouyumlu, antimikrobiyal, yara iyileşmesini hızlandırıcı ve hemostatik özelliklerinden yararlanılmıştır. Aynı zamanda membranın içine kolayca işlenebilmektedir. Yapılan çalışmada çitosan esaslı kollajen membranın YDR’de kemik rejenerasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Li ve ark., 2014).

Stavropoulos ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defektlerin tedavisinde granüler kemik materyali ile sığır perikardiyumundan yapılan kollajen membran kullanılmıştır. Histolojik olarak yeni sement ve periodontal ligament rejenerasyonu görülmüştür. 3 yıllık takip sonucunda klinik ataşman seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (Stavropoulos ve ark., 2011).

Sentetik ürünler medikal kullanım için organik alifatik termoplastik polimerden üretilen ürünlerdir. Materyallerin en yaygın kullanılanı  $\alpha$ -hidroksi asitlerdir. Bu asitler PLA, PGA ve bunların polimerleri poliglikolid- laktid (PLGA) asitlerdir. PLA ve PGA monomerlerin katalitik polimerizasyonu ile üretilirler ve cerrahi dikiş sutureleri ve kontrollü ilaç salınım ürünlerinde kullanılmaktadır (Tatakis ve ark., 1999).

Sakallıoğlu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defektlerde sentetik rezorbe olan PLA membran (Atrisorb®) uygulanmış ve açık flep debridmanı ile karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre iki grupta da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Sakallıoğlu ve ark., 2007). Yapılan başka bir kontrollü klinik çalışmada PLA membran otojen kemik grefti ile beraber kullanıldığında rejenerasyon oluşmadığı bildirilmiştir (Ostby ve ark., 2010).

Stavropoulos ve ark. yaptığı bir çalışmada 28 hastada kemik içi defekte sahip olan dişlerin tedavisinde deproteinize sığır kemiğine (Bio-oss) ilave olarak PLA/PGA asit polimeri ya da kollajen membran kullanılmıştır. 1 yıl sonra 2 grupta da benzer SCD’de azalma ve KAK elde edilmiştir. Bu çalışmada kemik içi defektlerinin tedavisinde YDR’de kullanılan materyal türünün kritik öneme sahip olmadığı bildirilmiştir (Stavropoulos ve ark., 2004).

## 2.6. Diş Hekimliğinde Doku Mühendisliği

Son yıllarda hücresel olayların aydınlatılması ve biyolojik mediyatörlerin devreye girmesi ile rejeneratif periodontal tedavi için yeni teknikler ortaya çıkarak doku mühendisliğinin önemi artmıştır. Doku mühendisliği, hücrelerin entegre edildiği doğal veya sentetik yapı iskeleleri ve spesifik sinyaller üzerine inşa edilmiş bir bilim dalıdır ve son yıllarda önemli gelişmeler göstermiştir (Tyagi ve Dhindsa, 2009). Bu mühendislik alanı, fonksiyonunu kaybetmiş doku ya da organların yeniden restore edilmesini amaçlamaktadır (Baum ve Mooney, 2000). Kaybedilen ya da hasarlı dokuların tedavisinde altın standart; dokunun aynı yapıya sahip sağlıklı dokularla yer değiştirmesidir (Tyagi ve Dhindsa, 2009). Bu standarda ulaşmak için benimsenen stratejiler, doku kondüksiyonu, doku indüksiyonu ve hücre nakli olmak üzere 3 ana grup altında sınıflandırılmaktadır. Yeni kemik oluşumunu ve kan damarı oluşumunu sağlayan büyüme faktörlerinin keşfi doku indüksiyonunun temelini oluşturmaktadır. Doku indüksiyonu yaklaşımının uygulaması, hasarlı doku alanında, yapı iskelesi üzerine spesifik ekstraselüler matriks moleküllerinin yerleştirilmesi ile olmaktadır. Bu moleküller dokuda bulunan hücrelerin fonksiyonunu yöneterek istenen yapının oluşmasını sağlamaktadır. Domuzdan alınan diş minesi proteinlerinin, periodontal hasarlı bölgelerde yeni kemik oluşumu için kullanılması bu yaklaşıma örnek olmaktadır (Tyagi ve Dhindsa, 2009; Sırık ve ark., 2012).

Son zamanlarda hücresel ve moleküler biyolojideki ilerlemeler, büyüme faktörlerinin fonksiyonlarını ve periodontal yara iyileşmesinin değişik safhalarındaki etkilerini ortaya koymuştur. En son yapılan insan ve hayvan çalışmalarına göre büyüme faktörleri, dokularda hücresel göçü, farklılaşmayı ve çoğalmayı arttırarak rejenerasyon kapasitesini arttırabilmektedir. Yara iyileşmesi sırasında, büyüme faktörlerinin özel hücre reseptörlerine bağlanarak ve embriyonik dönem sırasındaki fonksiyonları taklit ederek önemli hücresel olayları düzenledikleri gösterilmiştir (Taba ve ark., 2005).

Diş oluşumu sırasındaki basamakların aydınlatılması ve doku mühendisliğindeki ilerlemelerle beraber periodontal rejeneratif tedavide yeni yaklaşımlar ortaya çıkmaya başlamış ve odontogenezde rol oynadığına inanılan spesifik faktörlerden biri olan MMP bu amaçla kullanılmaya başlanmıştır. Bu uygulama, MMP'nin cerrahi olarak hastalıktan etkilenmiş kök yüzeyine uygulanmasıyla, dokuları oluşturan hücrelerin ara maddesi

olan ekstrasellüler matriks oluşturulması ve embriyonik dönemdeki gelişimsel olayların klinik bir ortamda taklit edilmesi prensibine dayanmaktadır (Lyngstadaas ve ark., 2001).

### **2.6.1. Mine matriks proteinleri ile hedeflenen periodontal rejenerasyonun biyolojik temelleri**

Hücrelerin olmasına ya da olmamasına göre ve kollejen liflerin dağılımına göre farklı sement türleri vardır. Hücresiz ekstrinsik fibrilli sement hücresiz içerikte yoğun Sharpley lif demetlerinden oluşmaktadır ve kökün servikal 2/3'lük kısmında yer almaktadır. Hücresiz ve fibrilsiz sementte ise hücre ve fibril bulunmamaktadır ve hücresiz ekstrinsik sementin bir parçası olarak koronal kısımda yer almaktadır. Hücreli karışık katmanlı sement ise ekstrinsik ve intrinsik fibrillerden ve düzensiz dağılmış hücrelerden oluşmaktadır. Kökün apikal 1/3'ünde yer almaktadır. Hücreli fibrilli sementte kollajen fibriller periodontal ligamentten uzanmaz ve kök rezorpsiyonu sonrası tamir amacıyla oluşmaktadır. Farklı sement tipleri, oluşumlarının farklı yollarla oluşmasından kaynaklanmaktadır (Hammarström, 1997). Kökün oluşumu HEKK oluşumu ile başlamaktadır. HEKK 2 tabakadan oluşmaktadır ve içteki tabaka kuronun ameloblastik tabakasına kadar uzanmaktadır. Gelişen kökün apikal kısmındaki depolanmış mine matriksinin sement oluşumunu başlatıcı faktör olduğu bulunmuştur (Gestrelus ve ark., 2000) HEKK dental papildeki mezenşimal hücreleri uyatarak predentin katmanı oluşturmaktadır. Dental foliküldeki bu mezenşimal hücreler sementogenezi uyardığı düşünülen yeni şekillenen dentini oluşturmaktadır. Fakat açığa çıkmış kök dentini sementoblastların farklılaşması için yeterli değildir. HEKK dental organın apikal uzantısını ve kuronun ameloblast tabakasının uzantısı olan kök kınının iç tabakasını oluşturmaktadır. HEKK'den salgılanan MMP hücresiz sementi oluşturmaktadır. Genel olarak koronal sementogenez minenin dental foliküldeki hücrelerle temas etmesi sonucu oluşmaktadır. Koronal sement oluşumu MMP'nin mine yüzeyinde salgılanması sonucu oluşmaktadır. Daha sonra sement açığa çıkmış mine yüzeyinde depolanmaktadır (Hammarström, 1997).

Fare büyük azı dişlerinde yapılan deneysel çalışmada koronal sement dental foliküler hücrelerin mine matriksi ile temas ettiği yerde sementoblast benzeri hücreler tarafından oluşturulmaktadır ve ürünleri çoğunlukla hücresizdir. Buna göre mine

matriksi ile temas etmeleri onların sert doku şekillendirici hücrelere değişmesine ve hücresiz sement dokusu olarak şekillenmesine neden olmaktadır (Gestrelus ve ark., 2000).

Hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalarda amelogeninlerin kök gelişimi sırasında belirgin biçimde arttığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda amelogeninler ile hücresiz sement arasında sıkı bir temas bulunmaktadır. İnsanlar üzerinde yapılan histolojik çalışmalarda hücresiz sement oluşmadan önce dentin yüzeyinde bir miktar mine matriksi görülmektedir. Yapılan bir çalışmada 2 maymunun lateral keser dişleri çekilmiş ve kök yüzeyinde standart kaviteler açılmıştır. Daha sonra test grubundaki kavite MMP ile doldurulmuş, kontrol grubundaki kaviteye bir işlem uygulanmamıştır. Daha sonra dişler orijinal kavitesine reimplante edilmiştir. 8 hafta sonra test grubunda defekt bölgesinde hücresiz sement oluşumu gözlenirken, kontrol grubunda sadece tamir edici hücreli sement oluşmuştur (Sculean ve ark., 2007).

MMP amelogenin, amelin, enamelin, tuft proteini, proteaz ve albümin gibi birçok proteinden oluşmaktadır. Bu proteinlerin hücresiz sement gelişimi, periodontal ligament ve kemik oluşumunda önemli olduğu bildirilmiştir. Amelogeninler MMP’de en fazla bulunan proteindir ve diş dokularının formasyonu ve mineralizasyonunda önemli moleküllerdir. Aynı zamanda amelogeninler farklı boyutlardadır ve % 90’dan fazlası organikdir. Amelogeninler; % 30 prolinden, % 13 glutamin, % 10 lösin ve % 8 histidinden oluşmaktadır (Gestrelus ve ark., 2000).

Amelogeninler fizyolojik pH’da çözünmez iken, düşük ya da yüksek pH’da çözünmektedir. Çözünmeleri sıcaklıktan etkilenmektedir ve en iyi çözünürlük düşük sıcaklıkta sağlanmaktadır. Aköz bir solüsyon olan propilen glikol aljinat (PGAL) MMP’nin taşınması için en uygun ajandır. Asidik bir ortamda MMP’nin PGAL içinde çözüldüğü ve oldukça kıvamlı bir hale geldiği görülmüştür. Nötral PH’da ve vücut sıcaklığında ise viskozitesinin azaldığı ve PGAL’nın ortamdan uzaklaşarak MMP’nin ortaya çıktığı belirtilmiştir (Gestrelus ve ark., 1997). MMP, biyolojik olarak kullanılabilir ve ticari olarak elde edilebilir hale getirilerek piyasaya Emdogain® adı altında sunulmuştur.

### 2.6.2. Mine matriks proteinlerinin kullanıldığı hayvan çalışmaları

Hammarström ve ark. (1997) tarafından bukkal dehissens defektlerinde MMP ve değişik protein tiplerinin periodontal rejenerasyona etkileri incelenmiştir. Maymunların üst çenelerinde her iki tarafta kanin dişinden 1. büyük azı dişine kadar uzanan mukoperiostal flepler kaldırılmıştır. 1. büyük azı, 1. küçük azı ve 2. küçük azı dişlerinin mezyal köklerinin bukkal tarafında alveol kemiği ile beraber periodontal ligament ve sement kaldırılarak dehissens tipi defektler oluşturulmuştur. MMP 6 aylık domuzdaki henüz sürmemiş dişler kazınarak elde edilmiştir. Bu matriksten homojenize edilmiş mine matriksi, homojenize edilmiş etilendiaminintetraasetik asit (EDTA) ile tamponlanmış hali, mine matriksinin düşük molekül ağırlıklı proteinler, amelogeninler içeren asidik ekstresi ve bu ekstrenin saflaştırılmış şekli olan MMP hazırlanmıştır. Sekiz hafta sonra hayvanlar morfometrik inceleme için sakrifiye edilmiş ve defekt bölgeleri ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre homojenize edilmiş mine matriksi, mine matriksinin düşük molekül ağırlıklı proteini amelogenin içeren asidik ekstresi ve ekstrenin saflaştırılmış şekli olan MMP uygulanmıştır. Her 3 grupta dentine sıkı bir şekilde yapışmış hücresiz sement rejenerasyonu, yeni oluşan alveol kemiğine uzanan kollajen lifler görülmüştür. Bu çalışmada elde edilen rejenerasyonun MMP içerisindeki amelogenin içeriği ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

Sculean ve ark. (2000) tarafından maymunlarda yapılan bir çalışmada fenestrasyon tip defektlerinde YDR ve MMP'nin iyileşmeye etkisi histolojik olarak araştırılmıştır. Üç adet maymunun 4 kanin dişinin bukkalinde standart fenestrasyon tipi defektler oluşturulmuştur. Bukkal kemik kısımları uzaklaştırılarak kök yüzeylerindeki sementi uzaklaştırmak amacıyla kök yüzeyi debridmanı yapılmıştır. Daha sonra kök yüzeylerine EDTA uygulanmış ve defektlere rezorbe olabilen membran ile YDR veya MMP veya sadece koronale kaydırılan flep uygulanmıştır. Beş ay sonra hayvanlar histolojik çalışma için sakrifiye edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre YDR ile tedavi edilen grupta yeni sementin içine girdiği kollajen liflerle beraber yeni bağ dokusu ataşmanı olduğu görülmüştür. MMP ve sadece koronale kaydırılan flep uygulanan grupta ise değişik derecelerde bağ dokusu ataşmanı olduğu bildirilmiştir. Her üç grupta oluşan sement tipi benzer bulunmuştur. Bu çalışmaya göre rezorbe olabilen membran ile uygulanan YDR yeni ataşman ve kemik oluşumunu desteklemektedir.

Cochran ve ark. (2003) tarafından babunlarda yapılan bir çalışmada kemik içi defektlerde kullanılan MMP ve otojen kemik greftinin periodontal rejenerasyona etkisi araştırılmıştır. Habeş maymunlarının alt çenesinde bulunan üç dişte farklı boyutlarda çift taraflı defektler oluşturulmuştur. Defekt bölgesine ligatür yerleştirilerek plak birikimine izin verilmiştir. İki ay sonra ligatürler çıkartılmış kök yüzeyleri düzleştirilmiştir. Alt çenenin bir bölgesindeki defektlere EDTA, MMP ve otojen kemik grefti uygulanmış diğer bölgesindeki defektlere ise sadece EDTA uygulanmıştır. 5 ay sonra histolojik çalışma amacıyla hayvanlar kurban edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre bütün defektlerde yeni sement, Sharpey liflerinin içine girdiği periodontal ligament ve yeni kemik oluşumu görülmüştür. Dar defektlerde MMP ve otojen kemik greftinin uygulandığı grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı periodontal rejenerasyon görülmüştür. Geniş defektlerde 2 grup arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu çalışmada MMP ve otojen kemik greftinin beraber kullanılması sonucu başarılı periodontal rejenerasyon sonuçları elde edildiği bildirilmiştir.

Nemcovsky ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, farelerde oluşturulan kemik içi defektlerin tedavisinde MMP'nin etkisi histolojik olarak incelenmiştir. On adet Wistar faresinin 1. büyük azı dişinin mezyal kökünün mezyal kısımlarında kemik içi defektler oluşturulmuştur. Kök yüzeyleri düzleştirilip, % 24'lük EDTA jel uygulanmış ve serum ile yıkanmıştır. Daha sonra test grubundaki defektlere MMP uygulanmış, kontrol grubuna ise PGA uygulanmıştır. Fareler cerrahiden 12 hafta sonra histolojik çalışma amacı ile kurban edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre sadece test grubunda yeni sement oluşumu görülmüştür. Test grubunda kontrol grubuna göre daha az dişeti çekilmesi, daha derin dişeti oluğu ve daha kısa bağlantı epiteli oluşumu gözlenmiştir. Ankiloz kontrol grubunda daha çok görülmüştür fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yeni kemik oluşumu her iki grupta benzer bulunmuştur. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP bu hayvan çalışmasında kök yüzeyinde dişeti çekilmesi ve uzun bağlantı epiteli oluşumunu azaltarak periodontal iyileşmeyi ve yeni sement oluşumunu arttırmaktadır.

Intini ve ark. (2008) tarafından fare kalvaryalarında oluşturulan kritik boyutlardaki 8 mm'lik kemik defektlerinde MMP ve DKKKA uygulanmış ve kemik oluşumuna etkisi araştırılmıştır. 5 farede 5 farklı defekt oluşturulmuştur. Defektlere

sırasıyla MMP, DDKKA ve KMP uygulanmıştır. Diğer iki kontrol grubundan ilkinde hiçbir biyomateryal uygulanmamış ve diğerine ise hiçbir cerrahi işlem uygulanmamıştır. 8 hafta sonra histolojik çalışma için hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre hiçbir biyomateryalin uygulanmadığı ve MMP uygulanan grupta defektin merkezinde yeni kemik oluşumu görülmemiş ve defekt kenarlarında kısıtlı miktarda kemik oluşumu gözlenmiştir. DDKKA uygulanan grupta 8 hafta sonra hala kemik partikülleri tespit edilmiş ve defektin merkezinde sınırlı miktarda kemik oluşumu gözlenmiştir. MMP ve DDKKA uygulanan gruplarda sınırlı miktarda kemik oluşumu gözlenmiş ve hiçbir biyomateryalin uygulanmadığı grup ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Diğer KMP'nin uygulandığı grupta ise yeni kemik oluşumu gözlemlenmiştir. Bu çalışmaya göre kritik boyuttaki kemik defektlerinde KMP, DDKKA ve MMP'nin kemik oluşumuna etkisinin sınırlı olduğu ve kemik rejenerasyonunda etkili olmadığı bulunmuştur.

Shirakata ve ark. (2014) tarafından diabetik Wistar sıçanlarında cerrahi olarak oluşturulmuş kemik üstü ve kemik içi periodontal defektlerde MMP'nin iyileşmeye etkisi araştırılmıştır. Wistar sıçanları diabetik ve diabetik olmayanlar olmak üzere 2 gruba ayrılmış ve cerrahi olarak çift taraflı 1. büyük azı dişlerinin mezyal köklerinde kemik defektleri oluşturulmuştur. Bir taraftaki dişe kök yüzeyi düzleştirmesinin ardından EDTA uygulanmış ve daha sonra MMP uygulanmıştır. Diğer taraftaki dişe hiçbir işlem uygulanmamıştır. Histolojik analiz için 3 hafta sonra sıçanlar sakrifiye edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre diabetik sıçanlarda diabetik olmayan sıçanlara göre daha fazla dişeti çekilmesi görülmüştür. MMP uygulanan bütün sıçanlarda uzun birleşim epiteli daha kısa oluşmuştur. Bütün sıçanlarda yeni kemik oluşumu görülmüş ve gruplar arasında istatistiksel olarak fark görülmemiştir. Hiçbir dişte yeni sement oluşumu görülmemiştir. Bu çalışmada MMP'nin yeni sement ve kemik oluşumuna etkisinin olmadığı gösterilmiştir.

Correa ve ark. (2014) tarafından yapılan histomorfometrik çalışmada kronik stres altındaki Wistar sıçanlarında oluşturulan periodontal defektlerde MMP'nin etkisi araştırılmıştır. Sıçanların bir kısmına 15 gün boyunca kronik stres uygulanmış diğer kısmına ise stres uygulanmamıştır. Daha sonra her iki gruptaki sıçanların 1. büyük azı dişlerinin bukkal kısmında fenestrasyon defekti oluşturulmuştur. Sıçanlar cerrahiden

sonra 2 alt gruba ayrılarak bir kısmına MMP uygulanmış diğer kısmına ise hiçbir işlem yapılmamıştır. Hayvanlar 21 gün sonra sakrifiye edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre kronik strese maruz kalan sıçanlarda kronik strese maruz kalmayan sıçanlara göre daha az kemik densitesi görülmüştür. MMP uygulanan grupta daha fazla kemik dolumu ve yeni sement oluşumu gözlenmiştir. Bu çalışmaya göre kronik stresin kemik densitesi üzerinde zararlı etkiye sahip olduğu ve MMP'nin kemik densitesini, yeni sement oluşumunu ve kemik dolumunu arttırdığı ortaya konulmuştur.

### **2.6.3. Mine matriks proteinlerinin kullanıldığı klinik çalışmalar**

Silvestri ve ark. (2000) tarafından kemik içi defekte sahip hastalarda rezorbe olmayan membran, modifiye Widman flep ve MMP'nin etkisi araştırılmıştır. Kemik içi defekte sahip 30 hasta seçilmiştir. 30 hastanın 10'una ePTFE uygulanmış, diğer 10'una sadece modifiye Widman flep ve geriye kalan 10'una ise MMP uygulanmıştır. 12 ay sonra KAK, SCD'de azalma ve dişeti çekilme miktarı (DÇM) değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP ve ePTFE uygulanan gruplarda sadece flep uygulanan gruba göre daha iyi klinik sonuçlar elde edilmiştir. MMP ve ePTFE uygulanan gruplarda KAK ve SCD'de azalma açısından fark görülmemiştir.

Okuda ve ark. (2001) tarafından kemik içi defekte sahip hastalarda MMP'nin dişeti oluşu sıvısındaki metalloproteinaz doku inhibitörü (TIMP) ve matriks metalloproteinaz (MAMP) seviyelerine etkisi araştırılmıştır. 16 hastada çift taraflı olacak şekilde toplam 36 kemik içi defekt çalışmaya dâhil edilmiştir. Defektlerin bir kısmına flep tedavisinin ardından MMP uygulanmış, diğer defektlere ise sadece flep yapılmıştır. Başlangıçta, ikinci, dördüncü ve onikinci haftalarda hastalardan dişeti oluşu sıvısı toplanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre dördüncü haftada MMP uygulanan grupta diğer gruba göre TIMP seviyesinde belirgin derecede azalma görülmüş, dördüncü ve on ikinci haftalarda benzer şekilde MMP uygulanan grupta belirgin derecede azalma görülmüştür. Çalışma sonunda her iki grupta da MAMP ve TIMP seviyelerinin eski seviyesine çıktığı görülmüştür. Bu çalışmaya göre MMP uygulanan grupta MAMP ve TIMP seviyeleri çok hızlı bir şekilde eski seviyesine gelmiştir. Buna göre MMP'nin erken dönemde iyileşmeyi hızlandırdığı bildirilmiştir.

Tonetti ve ark. (2002) tarafından derin kemik içi defekte sahip hastalarda MMP'nin rejeneratif tedaviye etkisi araştırılmıştır. 172 hastada var olan kemik içi defekt bölgelerinin bir kısmına papil korumalı flep ile beraber MMP uygulanmış, diğer defekt bölgelerine ise sadece papil korumalı flep uygulanmıştır. 12 ay sonra KAK, SCD'de azalma ve DÇM değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP uygulanan grupta daha çok KAK ve SCD'de azalma olduğu bulunmuştur. Bu çalışmaya göre MMP ile yapılan rejeneratif periodontal cerrahi ile sadece flep yapılan gruba göre daha başarılı klinik sonuçlar elde edilmiştir.

Yılmaz ve ark. (2003) tarafından MMP'nin horizontal kemik defektlerinde kemik kaybına etkisini araştırılmıştır. Üst çenede keser ve kanin dişler arasında radyografik olarak horizontal kemik kaybı görülen ve cep derinliği  $\geq 4$  mm olan 20 hasta çalışmaya dâhil edilmiştir. Aynı hastanın bir tarafına sulküler insizyonla beraber flep debridmanı ve MMP, diğer tarafına ise sulküler insizyon ya da ters açılı insizyonla beraber flep debridmanı yapılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP uygulanan grupta diğer 2 farklı insizyonla yapılan flep grubuna göre daha başarılı klinik sonuçlar elde edilmiştir. Derin cep bulunan bölgelerde sıkı cep bulunan bölgelere göre daha iyi klinik sonuçlar elde edilmiştir.

Siciliano ve ark. (2011) tarafından çoğunluğu 1 duvarlı olan, derin ve kemik içi defekt bulunmayan bölgelerde MMP ve YDR'nin etkisi araştırılmıştır. 40 hastada bulunan 40 tek köklü diş etrafındaki defekt çalışmaya dâhil edilmiştir. Bir kısmına sadece MMP diğer kısmına ise titanyum ile güçlendirilmiş membran uygulanmıştır. 12 ay sonra SCD ve KAS ölçülmüştür. Çalışmanın sonuçlarına göre YDR uygulanan grupta MMP uygulanan gruba göre istatistiksel olarak daha fazla KAK ve SCD'de azalma görülmüştür. Bu çalışmaya göre kemik içi defekt bulunmayan derin defektlerde YDR ile MMP'ye göre daha iyi klinik sonuçlar elde edilmiştir.

Leonardis ve Paolantonio (2013) tarafından 1-2 duvarlı kemik içi defekte sahip hastalarda sadece açık flep debridmanı, sadece MMP ya da MMP'ye ek olarak uygulanan sentetik kemik greftinin etkinliği karşılaştırılmıştır. Kemik içi defekte sahip 34 hastadaki defektlerden bir kısmına sadece açık flep debridmanı, diğer kısmına MMP ve diğer kısmına ise MMP'ye ek olarak hidroksiapatit ve  $\beta$  trikalsiyum fosfat kemik grefti uygulanmıştır. 12 ve 24 ay sonra KAS, SCD, DÇM ve radyografik olarak kemik

miktarı değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre bütün gruplarda klinik ve radyografik parametrelerde belirgin derecede kazanç görülmüştür. MMP'ye ilaveten kemik greftinin kullanıldığı grupta diğer 2 gruba göre daha çok KAK, SCD'de azalma ve daha az DÇM görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu çalışmaya göre kemik içi defekte sahip olan hastalarda MMP' ye olarak uygulanan kemik grefti ile daha iyi klinik ve radyografik sonuçlar elde edilmiştir.

Rozenfeld ve Iacono (2014) tarafından implant çevresinde krater benzeri kemik defekti olan bir hastada tetrasiklin ve MMP uygulanmıştır. 10 aylık takip sonucunda kanama, süpürasyon ve SCD'de belirgin derecede azalma olduğu görümlü ve bunun sonucunda MMP için yeni bir uygulama alanı ortaya konulmuştur.

Mitani ve ark. (2014) tarafından kemik içi defekte sahip hastalarda MMP ve YDR ile uygulanan rejeneratif periodontal tedavi açık flep debridmanı ile uzun dönemli olarak karşılaştırılmıştır. 40 hastada bulunan 2 ya da 3 duvarlı kemik defektleri çalışmaya dâhil edilmiştir. 5 yıllık takip süreci sonunda KAK, SCD, DÇM ve kemik dolum oranı karşılaştırılmıştır. MMP ve YDR uygulanan grupta sadece flep debridmanı uygulanan gruba göre daha fazla KAK ve kemik dolumu elde edilmiş ve SCD ve dişeti çekilmesinde anlamlı fark gözlenmemiştir.

Ogihara ve Tarnow (2014) tarafından yapılan çalışmada kemik içi defekte sahip hastalarda MMP ile farklı kemik greftlerinin etkinliği karşılaştırılmıştır. 69 hastada bulunan kemik içi defekt bölgeleri 3 gruba ayrılarak bir gruba DKKA diğer, gruba MMP ile DDKKA ve üçüncü gruba ise sadece MMP uygulanmıştır. Hastalar 3 yıl boyunca takip edilmiş ve çalışmanın sonunda KAK ve SCD karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre başlangıç seviyesine göre bütün gruplarda SCD'de azalma ve KAK'da belirgin derecede kazanç elde edilmiştir. Kombine kemik grefti uygulanan grupta sadece MMP uygulanan gruba göre daha başarılı klinik sonuçlar rapor edilmiştir.

#### **2.6.4. Mine matriks proteinlerinin kullanıldığı *in vitro* çalışmalar**

MMP klinik olarak güvenle kullanılmasının yanında *in vitro* ortamda PDLF hücreleri üzerinde bağlanma, çoğalma ve farklılaşma gibi birçok etkisi bulunmaktadır

(Schwartz ve ark., 2000). MMP'nin mekanizmasını anlayabilmek için birçok *in vitro* çalışma yapılmıştır.

Gestrelus ve ark. (1997) tarafından yapılan çalışmada *in vitro* ortamda MMP'nin periodontal ligament fibroblastlarına etkisi araştırılmıştır. İnsan periodontal ligament hücrelerine *in vitro* ortamda MMP uygulanmış ve hücrelerin göçü, çoğalması, bağlanması, biyosentetik aktivitesi ve mineralizasyona etkisi incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP periodontal ligament hücrelerinin çoğalmasını, total protein üretimini ve mineral nodül oluşumunu arttırmaktadır. Hücrelerin çoğalması ve bağlanmasında belirgin etkisi olmadığı bulunmuştur. Bu çalışmada MMP'nin rejenerasyon bölgesinde pozitif matriks olduğu gösterilmiştir.

Schwartz ve ark. (2000) tarafından MMP'nin *in vitro* ortamda periodontal ligament ve osteoblast öncü hücrelerinin salınımını arttırdığı osteoblast öncü hücrelerinin farklılaşmasını ve çoğalmasını uyardığı bildirilmiştir.

Lyngstadaas ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada MMP'nin *in vitro* ortamda periodontal ligament hücrelerinin metabolizmasına ve otokrin büyüme faktörü salınımına etkisi araştırılmıştır. MMP *in vitro* ortamda periodontal ligament hücrelerine uygulanmış ve hücrelerin bağlanma hızı, çoğalması, metabolizması ve DNA replikasyonuna etkisi incelenmiştir. Çalışmanın sonucuna göre MMP'nin periodontal ligament hücrelerinin bağlanmasını, büyüme hızını ve metabolizmasını ve aynı zamanda büyüme faktörü salınımını arttırdığı bulunmuştur.

Davenport ve ark. (2003) tarafından MMP'nin *in vitro* ortamda hastalıklı kök yüzeyindeki periodontal ligament hücrelerinin canlılığı, çoğalması ve bağlanmasına etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre yüksek dozda MMP hücrelerin canlılığını negatif etkilemektedir fakat hücrelerin bağlanmasını ve çoğalmasını arttırdığı bildirilmiştir.

Chong ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada MMP'nin, amelogenin ve TKBF'nin periodontal ligament fibroblastlarına *in vitro* ortamda etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP ve TKBF beraber periodontal ligament hücrelerinde yüksek çoğalma etkisi göstermektedir. Fakat amelogenin tek başına periodontal

ligament hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması üzerine etkisi bulunamamıştır. Bu çalışmaya göre MMP'nin klinikteki rejeneratif etkisinden sorumlu başka bir molekül bulunduğu ya da amelogenin rejenerasyonda tek başına yeterli olmadığı ve başka bir rejeneratif materyale gereksinim duyduğu gösterilmiştir.

Ashkenazi ve Shaked (2006) tarafından MMP'nin *in vitro* ortamda periodontal ligament fibroblastlarının klonojenik kapasitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP'nin periodontal ligamanet hücrelerinin klonojenik kapasitesini ve farklılaşmasını arttırdığı bildirilmiştir.

Rodrigues ve ark. (2007) tarafından *in vitro* ortamda MMP ve transforme edici büyüme faktörünün (TGF- $\beta$ 1) periodontal ligament fibroblastlarına etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP'nin periodontal ligament fibroblastlarının bağlanması, çoğalmasını, total protein sentezi, alkalen fosfataz aktivitesi ve mineralizasyonunu arttırmaktadır. TGF- $\beta$ 1'in periodontal ligament hücrelerinin adezyonunu arttırdığı bulunmuştur. MMP ve TGF- $\beta$ 1'in beraber uygulanmasının periodontal ligament hücrelerini pozitif olarak etkilemediği gösterilmiştir.

Nokhbehsaim ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada MMP'nin enflamatuvar durumda yara iyileşmesi üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP'nin *in vitro* ortamda yara iyileşme hızını, hücre çoğalmasını, adezyonunu, büyüme faktörü ve kollajen sentezini ve mineralizasyonu arttırdığı bulunmuştur. İnterlökin1- $\beta$  varlığında MMP'nin etkilerinin belirgin biçimde azaldığı bildirilmiştir. Bu çalışmaya göre periodontal ligament hücre fonksiyonu periodontal rejenerasyonda kritik role sahiptir ve enflamatuvar çevrede periodontal ligament hücre fonksiyonu azalmaktadır.

Sakoda ve ark. (2012) tarafından MMP'nin *in vitro* ortamda periodontal ligament hücrelerinden vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) salgılamasına etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP yara iyileşmesinde anjiogenezi artırarak VEGF üretimini uyarmaktadır.

Wu ve ark. (2014) tarafından *in vitro* ortamda MMP'nin dişetinden köken alan mezenşimal kök hücreleri üzerine etkisi araştırılmış ve çalışmanın sonuçlarına göre MMP mezenşimal hücrelerinin çoğalmasını ve osteojenik farklılaşmayı arttırmaktadır.

## **2.7. Kemik Defektlerinin ve Rejeneratif Tedavi Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemler**

Kemik defektlerinin morfolojisinin tespit edilmesi ve buna ilave olarak rejeneratif periodontal tedavi sonuçlarının değerlendirilmesi klinik olarak çok büyük öneme sahip olmaktadır. Rejeneratif tedavi sonuçlarının değerlendirilmesinde sondlama ile KAS'ın ölçülmesi kullanılmaktadır fakat KAS'daki değişimin enflamasyonun ortadan kaldırılması, uzun epitelyel ataşman ya da yeni bağ dokusu ataşmanı sonucu görülebildiği bildirilmiştir. Kesin tanı KAS'ın belirlenmesi ve buna ilave olarak bu bilgilerin radyolojik olarak desteklenmesi ile konulabilmektedir (Papapanou ve Tonetti, 2000).

Rejeneratif tedavi sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan diğer bir yöntem kemiğin ölçülmesidir. Kemiğin ölçülmesinde kullanılan yöntemlerden bir tanesi ikinci cerrahi işleme gerek kalmadan lokal anestezi altında kemiğin sondlanması işlemidir (Greenberg ve ark., 1976). Diğer yöntem ise başlangıçtaki kemik seviyesi ile yeni kemik seviyesini doğrudan karşılaştırmak için rejenerasyon işleminden 6-12 ay sonra bölgenin tekrar açılması işlemidir. Rejenere olan dokuların zarar görme ihtimali ve ikinci cerrahi işlem gerektirmesi gibi dezavantajları nedeniyle günümüzde tercih edilmemektedir (Papapanou ve Tonetti, 2000).

Rejeneratif tedavi sonuçlarının tam olarak değerlendirilmesi histolojik inceleme ile mümkün olmaktadır. Etik nedenlerden dolayı insanlarda nadir olarak kullanılmaktadır (Windisch ve ark., 2002).

Periodontal hastalığın tanı ve tedavisinde ve rejeneratif tedavi sonuçlarının değerlendirilmesinde başvurulacak çok sayıda görüntüleme tekniği bulunmaktadır. En çok kullanılanları ısırtma radyografileri, periapikal ve panoramik radyografilerdir. Isırtma radyografileri dişhekimliğinde çürük tanısı için ve periodontal hastalığın çok ileri aşamada olmadığı durumlarda alveoler kemik düzeyinin belirlenmesinde

kullanılmaktadır. Periapikal radyografiler yüksek görüntü kalitesine sahiptir ve kemik defektlerinin tamamının görüntülenmesinde kullanılmaktadır. Periodontal hastalığın tanısı amacıyla uzun kon paralel film tekniğinin kullanılması ile görüntü kalitesinde optimum sonuca ulaşılarak kemik defektlerindeki değişim gözlenebilmektedir. Panaromik radyografiler ile tüm dişlere ait bilgiler tek bir film üzerinde görülebilmektedir fakat diğer radyografilere göre daha az detaya ulaşılmaktadır. Panaromik radyografiler sonucu oluşan süperpozisyonlar ve hayalet görüntüler alveoler kemik seviyesinin yanlış yorumlanmasına neden olabilmektedir (Şener ve Baksı, 2013).

Dijital radyografilerin dişhekimliğinde kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda periodontal hastalıkların tanısında konvansiyonel filmlere göre bir üstünlük sağlamadığı ortaya konulmuştur. Dijital sensörlerin kullanımı ile beraber hastaya ulaşan radyasyon dozu konvansiyonel filmlere göre %80-90 oranında azaltılmıştır. Dijital görüntüler üzerinde yazılımlar ile gerçekleştirilen görüntü işleme teknikleri ile görüntü kalitesi ve görüntünün tanısal kapasitesi arttırılabilmekte ve boyutsal ölçümler yapılabilmektedir (Şener and Baksı, 2013).

Periodontal hastalık sonucu ortaya çıkan alveol kemik kaybının erken dönemde saptanmasında en sık kullanılan yöntem dijital çıkartma radyografisidir. Çıkartma radyografisi farklı zamanlarda alınan radyografilerin üst üste çakıştırılarak birbirinden çıkartılması ile gözle seçilebilen yoğunluk değişikliklerinin saptanabilmesi ilkesine dayanan bir görüntü analiz yöntemidir. Çıkartma radyografisinde başarı elde etmek için ilgilenilen bölgenin aynı ışınlama parametrelerinde ve projeksiyon geometrisinde elde edilmiş seri radyografilere ihtiyaç duyulmaktadır. Fakat bunun her film çekiminde sağlanması mümkün olmamaktadır. Bu durumda çıkartma işlemi ideal şartlarda gerçekleştirilememekte ve bunun sonucunda kemik kaybında ya da kazancındaki değişiklikler ayırtedilememektedir. Işınlama geometrisindeki farklılıklardan etkilenmediği iddia edilen başka bir analiz yöntemi olan fraktal analiz yöntemi trabeküler kemikte oluşan erken dönem değişikliklerin saptanmasında kullanılacak yeni bir görüntü analiz yöntemidir (Soğur ve Baksı, 2014).

Kemik defektlerinde periapikal radyografiler üzerinde doğrusal ölçümler ile sement-mine bağlantısından alveoler kret tepesine ve defekt tabanına ölçümler yapılarak kemik kaybı ortaya konulmaktadır (Kim ve ark., 2008). Buna ek olarak defekt açısı,

defekt alanı ve defekt dolum yüzdesi ölçülerek bir başka zaman aralığında alınan periapikal radyografiler ile karşılaştırılarak rejeneratif tedavi sonuçları değerlendirilebilmektedir (Steffensen ve Weber, 1989; Scabbia ve Trombelli, 2004).

### **2.7.1. Image j programı**

Image j programı (National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA) gri skala ve renkli görüntüleri gösterebilen bir görüntü analiz programıdır. 8-bit, 16-bit ve 32-bit boyutundaki görüntüleri düzenleyip, analiz edip kaydedebilmektedir. Kullanıcının belirlediği ölçülerde alanı ve pikseli ayarlayabilmekte ve aynı zamanda uzaklık ve açı ölçümleri yapılabilmektedir. Kontrast, keskinleştirme, yumuşatma, kenar algılama ve medyan filtreleme gibi standart imaje işleme özelliklerine sahiptir (“Image J”, y.y.). Yapılan bir çalışmada periodontal defektlerde nanokristalin hidroksiapatit kemik grefti ile kollajen membran kullanılarak açık flep debridmanı ile karşılaştırılmıştır. Radyolojik olarak kemik dolumu Image j programı ile analiz edilmiş ve defekt dolum yüzdesi hesaplanmıştır. Test grubunda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (Singh ve ark., 2012).

### **2.7.2. Konik ışınlı bilgisayarlı tomografi (CBCT)**

Hem konvansiyonel radyografi hem de dijital sistemler ile elde edilen intraoral radyografiler üç boyutlu yapıların iki boyutlu görüntüsünü oluşturan sistemlerdir. Görüntülenen bölgedeki dokuların birbiri üstüne süperpoze olması ve ışınlama teknolojisine bağlı distorsiyona uğraması sonucu alveol kemik kaybının maskelenmesine neden olmakta ve alveol kemiğinde ortaya çıkan erken dönem değişikliklerin saptanmasında yetersiz kalmaktadır. Bu aşamada üçüncü boyuta dair ayrıntılı bilgi verebilecek gelişmiş görüntüleme tekniklerinden yararlanılması gerekmektedir (Soğur ve Baksı, 2014). Dişhekimliğinde 2000’li yılların başından beri kullanılan diğer yöntemlere göre yeni olan, bilgisayarlı tomografide kullanılan yelpaze şeklinde ışın demeti yerine konik şeklinde ışın demeti kullanan, CBCT cihazı geliştirilmiştir. CBCT görüntüleme sisteminde röntgen tüpü ve dedektör hastanın başının çevresinde 360 derecelik tek bir rotasyon gerçekleştirerek hacimsel görüntü elde edilmektedir. Bilgisayarlı tomografi ile karşılaştırıldığında daha kısa tarama zamanı,

daha iyi uzaysal çözünürlük, daha düşük ışınlama dozu ile beraber yüksek çözünürlük gibi avantajlar sağlamaktadır (Şener ve Baksı, 2013). CBCT distorsiyon oluşmadan 3 boyutlu kesitsel görüntü elde edilmesini sağlamaktadır. CBCT temporamandibular eklem, kemik defektleri ve maksillofasiyal deformitelerin değerlendirilmesini, implant yapılacak bölgedeki kemiğin analizini sağlamaktadır. Fakat yüksek maliyet, karmaşık oluşu ve radyasyon dozunun yüksek olmasından dolayı pratikte çok kullanılmamaktadır (Misch ve ark., 2006).

Misch ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada *in vitro* ortamda oluşturulan periodontal defektlerde CBCT ile periapikal radyografiler ve periodontal sond ile ölçüm metodu karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre interproksimal kemik defektlerinin görüntülenmesinde 3 yöntemde başarılı bulunmuş fakat bukkal ve lingual defektler sadece CBCT ile görüntülenebilmiştir. Bu çalışmaya göre CBCT periodontal defektlerin tüm yönlerde görüntülenebilmesinde diğer yöntemlere göre daha başarılı bulunmuştur.

Vasconcelos ve ark. (2012) tarafından yapılan başka bir çalışmada kemik defektlerinde defekt genişliğini ve derinliğini tespit etmede, sement-mine bağlantısından alveol krete olan mesafenin ölçülmesinde ve defektin morfolojisini tanımlamada CBCT ile periapikal radyografiler karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre 2 yöntemde defekt derinliği ve genişliği benzer bulunmuştur. Bu çalışmaya göre CBCT kemik defektlerinin üç boyutlu görüntülenmesini sağlamaktadır.

## **2.8. Tezin Gerekçesi**

Periodontitis periodontal dokuların enflamatuvar bir hastalığıdır. Eğer tedavi edilmezse diş kaybıyla sonuçlanabilmektedir. Periodontal tedavinin temel amacı periodontal hastalığın ilerlemesine engel olmak ve diş kaybını önlemektir. Kök yüzeyi debridmanı ve flep tedavisi periodontal hastalığın ilerlemesini ve diş kaybını önlemektedir. Flep tedavisi sonucu oluşan tamir mekanizması ile kök yüzeyinde uzun birleşim epiteli oluşarak periodontal dokular iyileşmektedir. Fakat periodontal tedavinin temel amacı periodontitis sonucu kaybedilen kök sementi, periodontal ligament ve alveol kemiğini içeren diş destek dokularının rejenerasyonunun sağlanmasıdır. Rejenerasyonun sağlanması amacıyla çeşitli materyaller kullanılmaktadır.

Periodontitisten etkilenmiş kök yüzeyinde rejenerasyon amacıyla MMP biyolojik ajan olarak kullanılmaktadır. MMP domuz diş germinden elde edilmektedir ve esas olarak amelogeninden oluşmaktadır. Yapılan histolojik çalışmalara göre MMP periodontal ligament hücrelerinden büyüme faktörü ve alkalen fosfataz salınımını buna ilave olarak periodontal ligament hücrelerinin ve osteoblast öncü hücrelerinin çoğalmasını sağlamaktadır. Aynı zamanda MMP kollajen, protein üretimini ve periodontal dokularının mineralizasyonunu arttırmakta ve epitelyal hücrelerin çoğalmasına engel olmakta ve yeni sement, periodontal ligament ve alveoler kemik oluşumunu sağlamaktadır. Fakat MMP'nin periodontal dokulara etkisinin sağlanması için defekt bölgesinde rejenerasyon kapasitesine sahip dokuların bölgeye gelmelerini sağlayan ve rejenerasyona engel olan diğer dokuların gelmesine engel olan boşluk koruyucu bir sistem olması gerekmektedir. MMP'nin boşluk koruyucu özelliği bulunmamaktadır. Bunu sağlamak amacıyla bizim çalışmamızın klinik aşamasında defekt bölgesine YDR amacıyla rezorbe olan membran uygulanmış ve MMP'nin YDR'ye ilave etkisi klinik ve radyolojik olarak araştırılmıştır. Test bölgesine YDR'ye ilave olarak MMP uygulanmış, kontrol bölgesinde ise sadece YDR uygulanmıştır. Bu çalışmada amacımız iki yönlü bir araştırma ile klinik ve radyolojik olarak YDR'ye ek olarak uygulanan MMP'nin ilave bir etkisi olup olmadığını ve *in vitro* ortamda MMP'nin periodontal ligament hücrelerine etkisini araştırmaktır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hasta ve Defekt Seçim Kriterleri

Araştırma kapsamına alınan hastalar Yüzüncü Yıl Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Kliniği'ne başvuran ve yapılan klinik ve radyografik muayene sonucu ileri kronik periodontitis teşhisi konulan hastalar arasından seçildi.

Hasta ve defekt bölgesinin seçiminde aşağıdaki şartlara uygunluk arandı:

1. Sistemik olarak sağlıklı olan,
2. Daha önce periodontal tedavi görmemiş,
3. Son 6 ayda periodonsiyumu etkileyecek ilaç kullanmamış,
4. Sigara içmeyen ya da günde 10 adetten az sigara içen (Haber ve ark., 1993),
5. Başlangıç periodontal tedavi sonrasında plak indeksi (PI) değerlerinin  $<1$  olması,
6. Başlangıç periodontal tedavi sonrasında araştırma bölgesinde SCD  $\geq 5$  mm bulunması,
7. Cerrahi işlem sırasında  $\geq 3$ mm (alveol kret ve defekt tabanı arası) derinliğinde 3 duvarlı kemik içi defekti olan ve furkasyon problemi olmayan dişler çalışmaya katıldı.

#### 3.2. Başlangıç Periodontal Tedavi

Seçim şartlarına uyan hastalara tedavilerine başlamadan önce, periodontal hastalıklar, periodontal hastalığa neden olan mikrobiyal dental plak, periodontal tedavi yöntemleri, ileri periodontal cerrahi işlemler, rejeneratif işlemler ve kullanılacak materyaller hakkında detaylı bilgi verildi. Hastaların sözlü ve yazılı onayları alındı. Hastalara modifiye Bass diş fırçalama yöntemi ile dişlerini günde 2 kez sabah ve akşam fırçalamaları, diş ipi kullanımı ve/veya ara yüz fırçası kullanımı öğretilti.

Tüm hastalara diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme işlemlerini içeren başlangıç periodontal tedavi uygulandı. Bu işlemler orak scaler<sup>1</sup>, ultrasonik aletler<sup>2</sup> ve

---

<sup>1</sup> **Scaler** SH6/79, Hu-Friedy, Chicago, USA

<sup>2</sup> **Piezon® Standart built-in kit**, EMS, İsviçre

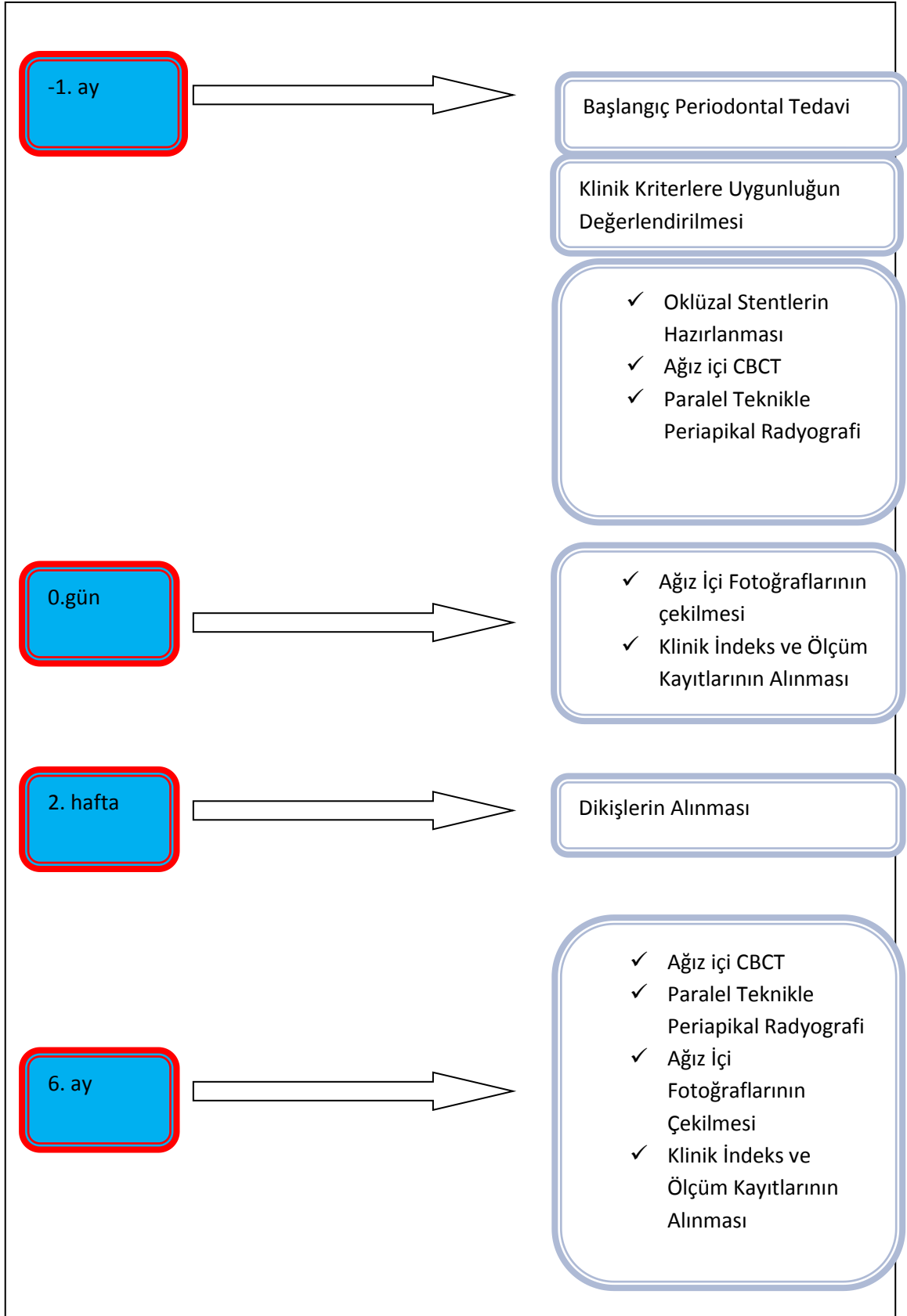
Gracey küretlerle<sup>3</sup> gerçekleştirildi. Bu dönem içerisinde hastaların öğretilen mikrobiyal dental plağı uzaklaştırma yöntemlerini doğru uygulayıp uygulamadıkları kontrol edildi. Başlangıç periodontal tedavisinden yaklaşık 4 hafta sonra hastaların genel şartlara uygunlukları değerlendirildi. Uygun görülen hastalarda cerrahi aşamaya geçildi. Çalışmamızda başlangıç periodontal tedaviden 4 hafta sonra elde edilen değerler başlangıç değeri olarak kabul edildi.

### **3.3. Hasta Grubu ve Araştırma Planı**

Deneyisel çalışmada 2 ayrı hasta grubu oluşturuldu. Toplam 33 hastada bulunan 41 defektten 19'u MMP ile YDR, diğer 22'si ise sadece YDR kullanılarak tedavi edildi. Araştırmanın uygulama planı Şekli 2'de görülmektedir.

---

<sup>3</sup> **Gracey**, SG5/6, SG7/8, SG9/10, SG11/12, SG13/14, Hu-Friedy, Chicago, USA



**Şekil 2.** Araştırma uygulama planı

Araştırma planına göre başlangıç periodontal tedaviyi takiben 1 ay sonra yeniden değerlendirme yapıldı ve araştırma kriterlerine uygunluk gösteren tedaviye devam edebilecek hastalar çalışmaya dahil edildi. Hastalardan alınan aljinat ölçülerden elde edilen alçı modeller üzerinde vakum cihazı kullanılarak Sx plak hazırlandı. Vakum cihazı ve Sx plak Şekil-3 ve Şekil-4'te gösterilmiştir. Ölçü üzerine adapte edilen plağın kenarları dişeti kenarından yaklaşık 2 mm yukarıda olacak şekilde düzeltildi. Tedavi öncesi ve sonrası periodontal sondun aynı açılanma ve pozisyonda yerleştirilmesi için kemik içi defekt bulunan diş ve komşu dişlerin hem oral hem bukkal tarafından mezyal ve distal papil bölgesi ve orta noktalarından olmak üzere toplam 6 noktadan oluk açıldı. Sx plağın modele uyumlanması Şekil-5'te gösterilmiştir.

Operasyon öncesi periapikal radyografiler, 3 boyutlu CBCT<sup>4</sup>, ağız içi fotoğrafları ve klinik indeks ve ölçüm kayıtları alındı. 3 boyutlu CBCT Şekil-6'da gösterilmiştir. Uzun kon paralel film tekniği kullanılarak dijital periapikal radyografiler elde edildi. Dijital periapikal radyografilerin elde edilmesinde X-ışınına duyarlı olan ağız içi dijital radyografi sensörü<sup>5</sup>, röntgen cihazı<sup>6</sup> ile optimal standardizasyon ve paralelliğin elde edilebilmesi için röntgen tüpüne adapte olacak şekilde hazırlanmış halka şeklinde başlık, bu parçayı sensör tutucuya bağlayan ara parça ve sensör tutucudan oluşan sistem<sup>7</sup> kullanıldı. Ağız içi dijital radyografi sensörü Şekil-7'de, halka şeklinde başlık, ara parça ve sensör tutucudan oluşan sistem Şekil-8'de gösterilmiştir. Radyografilerin elde edilmesinde ve standardizasyonun sağlanması için, her hastaya ve her defekt bölgesine özel olarak, sensör tutucu etrafına yerleştirilen akrilik ısırtma stentleri hazırlandı. Akrilik ısırtma stentleri Şekil-9'da gösterilmiştir. Tüm radyografiler kilowatt ve miliamper değerlerini sabit tutmak için tek bir röntgen cihazı ile alındı.

---

<sup>4</sup> **Kavo 3D Exam** powered by icat

<sup>5</sup> **Myray Zen- X** Digital X- Ray Sensor, Italy

<sup>6</sup> **Myray RXDC Hyper Sphere Plus**, Intraoral X- Ray, Italy

<sup>7</sup> **CDR® Digital Sensor Holder System**, Starter kits, Shick by Sirona

Operasyon sonrası hastalar kontrol ve profesyonel temizlik işlemleri uygulanması için çağırıldı. Hastalar 6 aylık takip süresi boyunca belirli aralıklarla kliniğe çağırılarak profesyonel diş yüzeyi temizliği işlemleri uygulandı. Altıncı ayda periapikal radyografiler, üç boyutlu bilgisayarlı tomografi ve ağız içi fotoğrafları ile beraber klinik indeks ve ölçüm kayıtları tekrarlandı.



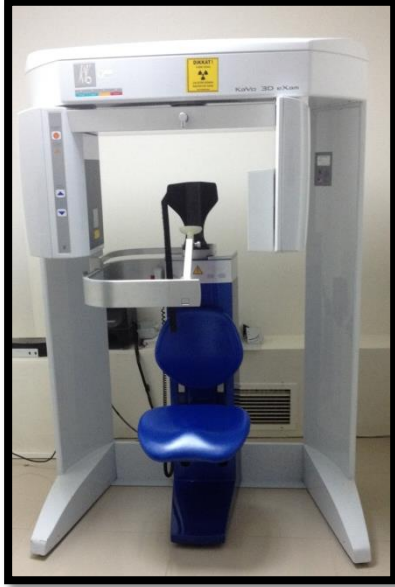
Şekil 3. Vakum cihazı



Şekil 4. Sx plak



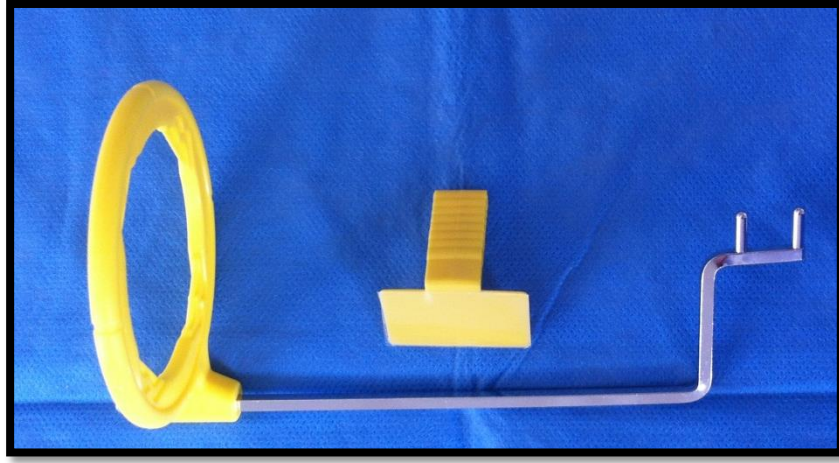
Şekil 5. Sx plağın modele uyumlanması



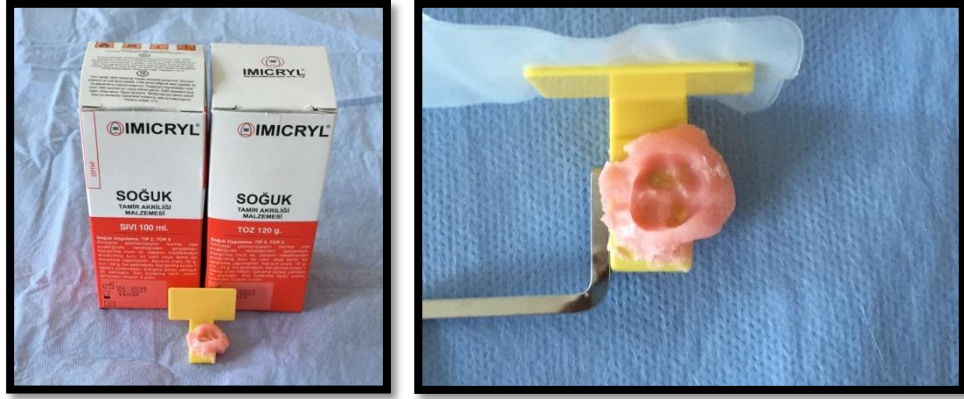
Şekil 6. 3 boyutlu CBCT



Şekil 7. Ağız içi dijital radyografi sensörü



**Şekil 8.** Halka şeklinde başlık, ara parça ve sensör tutucudan oluşan sistem



**Şekil 9.** Akrilik ısırtma stentleri

### 3.4. Operasyon Öncesi Alınan Klinik İndeks ve Ölçüm Kayıtları

Klinik indeks ve ölçümler özel olarak hazırlanmış indeks formlarına operasyondan hemen önce, operasyon sırasında ve 6 ay sonra kaydedildi. Çalışmada kullanılan klinik indeks ve ölçüm kayıtları Şekil-10, Şekil-11 ve Şekil-12’de gösterilmiştir. Hataların en aza indirgenmesi amacıyla sabit rehber noktası olarak Sx plak kullanıldı. Bu işlemler sırasında 10 mm’lik periodontal sond<sup>8</sup> kullanıldı. Çalışmada kullanılan klinik indeks ve ölçümler aşağıda belirtilmiştir:

<sup>8</sup> PQW7 Williams, Hu-Friedy, Chicago, USA

#### 3.4.1. Plak indeksi (PI) (Silness and L  e, 1964)

Dişlerde var olan plak miktarı meziyo-bukkal, bukkal orta nokta, disto-bukkal ve oral orta nokta olmak üzere 4 noktadan olacak şekilde, hava ile kurutulup pamuk tamponlarla izole edildikten sonra gözle ve sond ile değerlendirildi ve 0-3 arasında indeks değerleri verildi. Verilen skorlar toplanıp dörde bölünerek diş için ortalama PI değeri belirlendi. Tablo-1’de plak indeks değerleri gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Plak indeks değerleri

| Skor |   l  t                                                                                                            |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0    | Plak yok                                                                                                          |
| 1    |   plak gözle gözlenmeyen, ancak sondun ucu gingival sulkusta gezdirildiğinde fark edilen plak varlığı           |
| 2    |   plak gözle görünebilir seviyede dişeti kenarında ve diş yüzeyinde inceden orta kalınlığa kadar plak varlığı |
| 3    | Kalınlığı gingival sulkusu dolduran yumuşak eklenti ve plak varlığı                                               |

#### 3.4.2. Gingival İndeks (GI) (L  e and Silness, 1963)

Dişetindeki enflamatuvar durumu dişlerin meziyo-bukkal, bukkal orta nokta, disto-bukkal ve oral orta nokta olmak üzere 4 noktadan olacak şekilde değerlendirildi ve 0-3 arasında değerler verildi. Verilen skorlar toplanıp dörde bölünerek diş için ortalama GI değeri belirlendi. Tablo-2’de gingival indeks değerleri gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Gingival indeks değerleri:

| Skor | Ölçüt                                                                                                         |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0    | Sağlıklı dişeti                                                                                               |
| 1    | Hafif enflamasyon, hafif renk değişikliği ve ödem vardır. Sondlamada kanama yoktur                            |
| 2    | Orta derecede enflamasyon vardır, dişeti parlak kırmızı ve ödemlidir. Sondlamada kanama varlığı               |
| 3    | İleri derecede enflamasyon, belirgin kırmızılık ve ödem vardır. Spontan kanamaya eğilim ve ülserasyon varlığı |

#### 3.4.3. Dişeti oluğu kanama indeksi (DOKI) (Mühlemann and Son, 1971)

Periodontal sond dişin uzun aksına paralel olacak şekilde, her dişin hem oral hem bukkal tarafından mezyal ve distal papil bölgesi ve orta noktalarından olmak üzere toplam 6 noktadan olacak şekilde cep içerisinde hafifçe hareket ettirildi. Meydana gelen kanama varlığına göre 0-5 arasında indeks değerleri verildi. Verilen skorlar toplanıp altıya bölünerek diş için ortalama DOKI değeri belirlendi. Tablo-3’de dişeti oluğu kanama indeks değerleri gösterilmiştir.

**Tablo 3.** Dişeti oluğu kanama indeksi değerleri

| Skor | Ölçüt                                                                              |
|------|------------------------------------------------------------------------------------|
| 0    | Sağlıklı dişeti, kanama yok                                                        |
| 1    | Dişeti görünüşte normal, sondlamada kanama varlığı                                 |
| 2    | Dişetinde renk değişikliği ve sondlamada kanama varlığı                            |
| 3    | Dişetinde renk değişikliği, hafif ödem ve sondlamada kanama varlığı                |
| 4    | Dişetinde renk değişikliği, belirgin derecede ödem ve sondlamada kanama varlığı    |
| 5    | Dişetinde renk değişikliği, belirgin derecede ödem ve kendiliğinden kanama varlığı |

#### **3.4.4. Göreceli dişeti kenarı konum seviyesi**

Hem oral hem bukkal taraftan mezyal ve distal papil bölgesi ve orta noktalarından olmak üzere toplam 6 noktadan stent üzerinde açılan oluklar yardımı ile operasyon yapılacak diştten önceki ve sonraki diş kapsayacak şekilde, stent apikal kenarı ile dişeti kenarı arasındaki mesafe periodontal sond ile ölçüldü. Başlangıçta ve 6. ayda elde edilen değerler sonucunda DÇM belirlendi. Verilen skorlar toplanıp altıya bölünerek diş için ortalama DÇM değeri belirlendi.

#### **3.4.5. Sondlanan cep derinliği (SCD)**

Periodontal sond cep içine yerleştirilerek her dişin hem oral hem bukkal tarafından mezyal ve distal papil bölgesi ve orta noktalarından olmak üzere toplam 6 noktadan stent üzerinde açılan oluklar yardımı ile cep tabanı ile dişeti kenarı arası mesafe ölçüldü. Verilen skorlar toplanıp altıya bölünerek diş için ortalama SCD değeri belirlendi.

#### **3.4.6. Göreceli klinik ataşman seviyesi**

Periodontal sond cep içine yerleştirilerek her dişin hem oral hem bukkal tarafından mezyal ve distal papil bölgesi ve orta noktalarından olmak üzere toplam 6 noktadan stent üzerinde açılan oluklar yardımı ile cep tabanı ile stent kenarı arası mesafe ölçüldü. Verilen skorlar toplanıp altıya bölünerek diş için ortalama KAS değeri belirlendi.

#### **3.5. Operasyon Sırasında Alınan Klinik İndeks ve Ölçüm Kayıtları**

Operasyon sırasında lokal anestezi altında kemik içi defekt bulunan bölgeyi kapsayacak şekilde dişin hem oral hem bukkal tarafından mezyal ve distal papil bölgesi ve orta noktalarından olmak üzere toplam 6 noktadan stent üzerinde açılan oluklar yardımı ile stent kenarı ile defektin en derin noktası ve tepe noktası arası mesafe ölçüldü ve defekt derinliği belirlendi. Çalışmamızda 3 duvarlı kemik defektleri kullanıldı

**Y.Y.Ü Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı**

**Klinik İndeks ve Ölçüm Kayıtları**

**Plak İndeksi (Silness&Löe)**

7 6 5 4 3 2 1

|  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |

1 2 3 4 5 6 7

|  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |

7 6 5 4 3 2 1

1 2 3 4 5 6 7

**Gingival İndeks (Löe&Silness)**

7 6 5 4 3 2 1

|  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |

1 2 3 4 5 6 7

|  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |

7 6 5 4 3 2 1

1 2 3 4 5 6 7

**Dişeti Oluğu Kanama İndeksi (Mühleman ve Son)**

7 6 5 4 3 2 1

|  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |

|   |
|---|
| V |
| P |
| L |
| V |

1 2 3 4 5 6 7

|  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |

**Göreceli Dişeti Kenarı Konum Seviyesi (Stente göre)**

7 6 5 4 3 2 1

|  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |

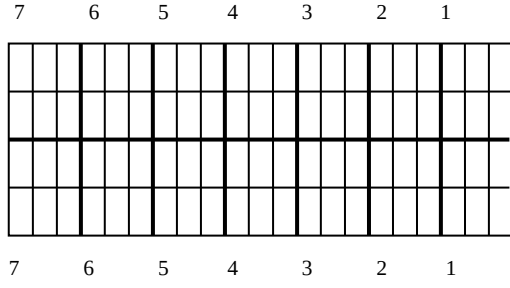
|   |
|---|
| V |
| P |
| L |
| V |

1 2 3 4 5 6 7

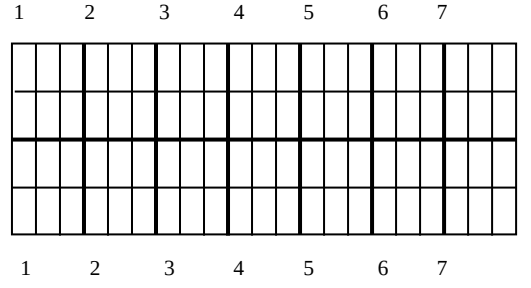
|  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |

**Şekil 10.** Klinik indeks ve ölçüm kayıtları 1

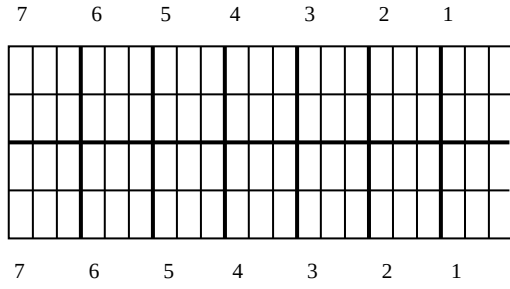
### Sondlanan Cep Derinliği



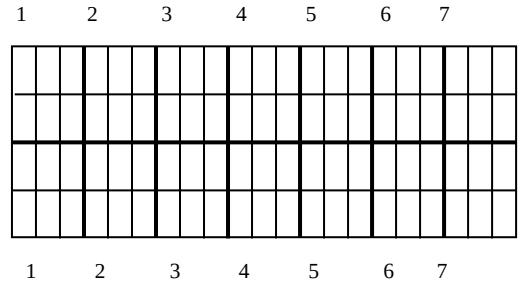
|   |
|---|
| V |
| P |
| L |
| V |



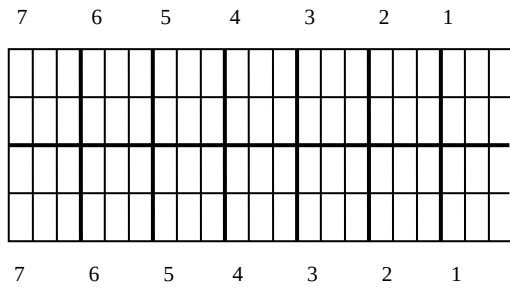
### Göreceli Klinik Ataşman Seviyesi (stente göre)



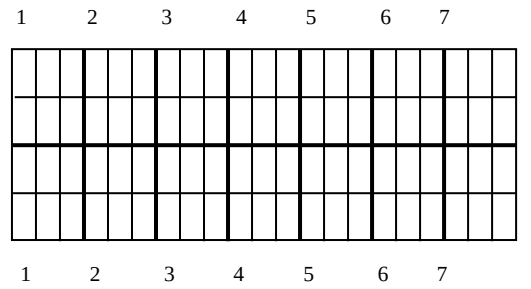
|   |
|---|
| V |
| P |
| L |
| V |



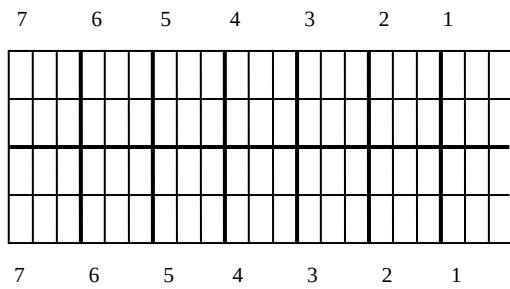
### Stent kenarı-defektin en derin noktası arası mesafe



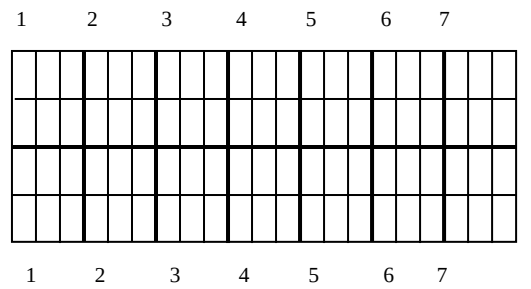
|   |
|---|
| V |
| P |
| L |
| V |



### Stent kenarı-defektin tepe noktası arası mesafe



|   |
|---|
| V |
| P |
| L |
| V |



Şekil 11. Klinik indeks ve ölçüm kayıtları 2

### Kemik İçi Defekt Derinliği

|   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
|   |   |   |   |   |   |   |
|   |   |   |   |   |   |   |
|   |   |   |   |   |   |   |
|   |   |   |   |   |   |   |
|   |   |   |   |   |   |   |
| 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |

|   |
|---|
| V |
| P |
| L |
| V |

|   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|   |   |   |   |   |   |   |
|   |   |   |   |   |   |   |
|   |   |   |   |   |   |   |
|   |   |   |   |   |   |   |
|   |   |   |   |   |   |   |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |

### Defekt Duvar Sayısı:

3 duvarlı

2 duvarlı

1 duvarlı

### Kombinasyonlar:

3+2 duvarlı

3+2+1 duvarlı

3+1 duvarlı

2+1 duvarlı

Şekil 12. Klinik indeks ve ölçüm kayıtları 3

### 3.6. Klinik İşlemler

#### 3.6.1. Test materyalleri

Çalışmada kullanılan biyomateryallerden biri embriyonik domuz diş minesinden elde edilen Emdogain®<sup>9</sup> jel, diğeri ise at perikardından elde edilen tip 1 kollajen yapıda bariyer membrandır<sup>10</sup>. Emdogain® uygulanacak kök yüzeylerine smear tabakasını uzaklaştırmak için %24 EDTA içeren Prefgel™<sup>11</sup> uygulandı. Emdogain® jel ve Prefgel™ Şekil-13'te, bariyer membran Şekil-14'te gösterilmiştir.



Şekil 13. Emdogain® jel ve Prefgel™



Şekil 14. Bariyer membran

<sup>9</sup> Emdogain® Gel Straumann, Basel, İsviçre.

<sup>10</sup> Osteobiol® Evolution Membrane Oval Std 25x35 mm, Giaveno, Italy

<sup>11</sup> PrefGel™ Straumann, Basel, İsviçre.

### 3.6.2. Cerrahi tedavi

Operasyon bölgesine uygulanan lokal infiltratif anestezi<sup>12</sup> sonrasında görüş açısının sağlanması amacıyla defekt bölgesinin öncesindeki ve sonrasındaki birkaç dişi kapsayacak şekilde sulküler ensizyonlar yapıldı. Vestibül ve palatinal bölgedeki mukoperiostal flepler kaldırılarak kök yüzeylerinin görünür hale gelmesi sağlandı. Açığa çıkan kök yüzeyleri ve defekt bölgesindeki tüm granülasyon dokuları temizlendi ve kök yüzeyleri el aletleri ile düzleştirildi. Tüm granülasyon dokuları uzaklaştırılarak kanama kontrolü sağlandıktan sonra operasyon bölgesi serum ile yıkandı. Emdogain® uygulanacak hastalarda kök yüzeyleri kurutulduktan sonra smear tabakasını uzaklaştırmak için Prefgel™ 2 dk süre ile uygulandı ve operasyon bölgesi tekrar serumla yıkandı. Bölge iyice kurutulduktan sonra Emdogain®, kök yüzeylerine ve tüm defekt içerisinde uygulandı. Emdogain® uygulanması ardından defekt boyutuna uygun olarak hazırlanan kollajen membran bölgeyi tamamen örtecek ve apikalde alveol kemiğini 2-3 mm kapatacak şekilde yerleştirildi. Flep gerekli olduğu durumlarda serbestleştirici ensizyonlar ile gevşetilerek membranı tamamen kapatacak şekilde yerleştirilerek 3-0 ipek dikiş<sup>13</sup> ile primer olarak kapatıldı.

Diğer grupta ise defekt bölgesine sadece kollajen membran yerleştirildi. Bu işlemlerin sonunda flep 3-0 ipek dikiş materyali ile primer olarak kapatıldı. Sadece bariyer membran ile Emdogain® ve bariyer membran uygulanan hastaların klinik fotoğrafları Şekil-15 ve Şekil-16'da gösterilmiştir.

### 3.6.3. Operasyon sonrası enfeksiyon kontrolü ve bakım

Enfeksiyon kontrolü amacıyla operasyon sonrası sistemik amoksisilin+klavulanik asit<sup>14</sup> (1000mg 2x1) 7 gün süre ile ve klorheksidin diglukonat<sup>15</sup> (% 0.2, 2x1) içeren ağız gargarası 2 hafta süre ile verildi.

Dikişler operasyondan sonraki 10-12. günlerde alındı. Hastalara cerrahi uygulanan bölgelere 1 ay süre ile diş ipi ve ara yüz fırçası kullanmamaları söylendi. İlk 2 hafta yumuşak fırça kullanarak hafifçe fırçalamaları daha sonraki süreçte normal bir

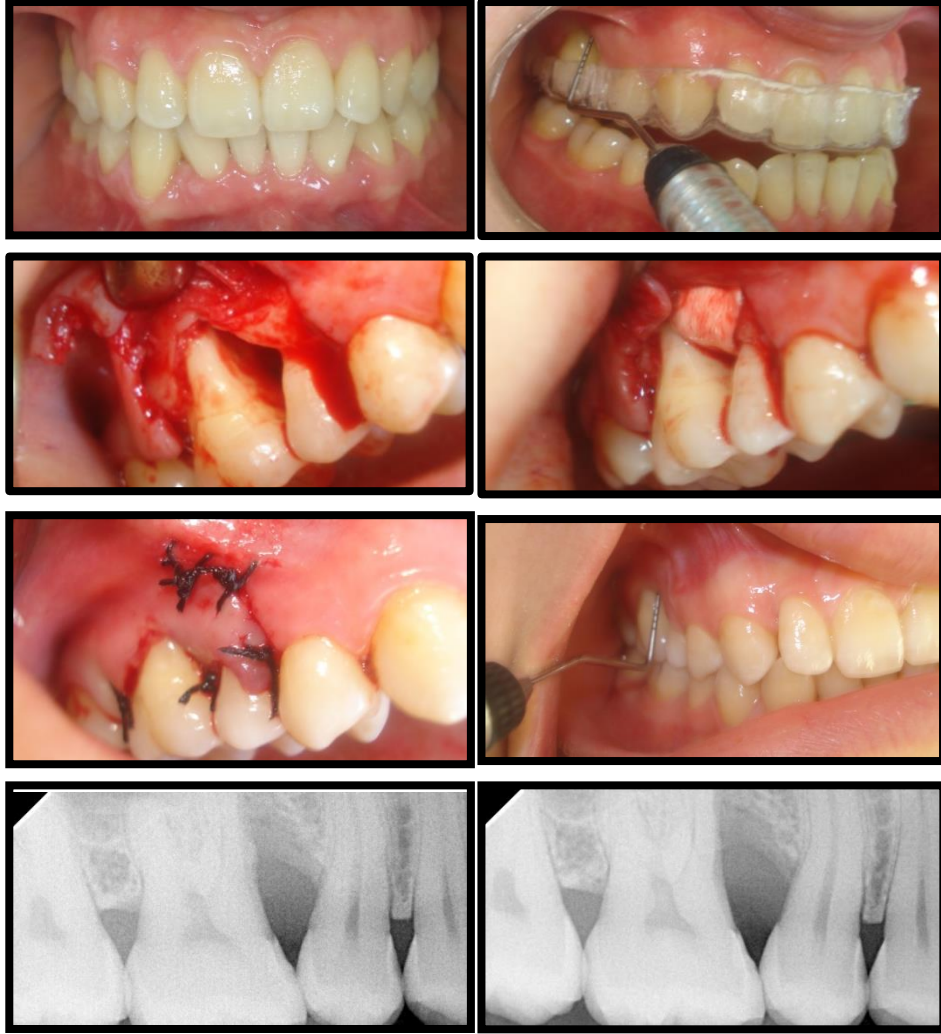
<sup>12</sup> **Ultracain® D-S forte**, Hoechst Marion Roussel San. ve TİC. A.Ş., Türkiye.

<sup>13</sup> **3-0 Atravmatik ipek**, İpek Plastik Kimya- Boya ve Sağlık Ürünleri San. Tic. A.Ş. İstanbul, Türkiye

<sup>14</sup> **Augmentin BID 1000mg** Fako İlaçları A.Ş., Türkiye.

<sup>15</sup> **Klorhex % 0.2** Drog-San İlaçları San. ve Tic. A.Ş., Ankara, Türkiye.

şekilde günde 2 kere fırçalamaları söylendi. Hastalara 2. aya kadar her hafta, 3. aya kadar 15 günde bir ve takip süresinin sonuna kadar da ayda bir olmak üzere profesyonel diş yüzeyi temizliği uygulandı. 6 aylık takip süresi boyunca hastalara sondlama işlemi ve subgingival debridman yapılmadı.



**Şekil 15.** Hastada bulunan kemik defektinin cerrahi tedavisi (kontrol)

- |                              |                              |
|------------------------------|------------------------------|
| a. Operasyon öncesi          | b. Operasyon öncesi sond ile |
| c. Kemik içi defekt görünümü | d. Membran uygulanması       |
| e. Flebin dikilmesi          | f. Operasyon sonrası 6. ay   |
| g. Başlangıç radyografisi    | h. 6. ay radyografisi        |



**Şekil 16.** Hastada bulunan kemik defektinin cerrahi tedavisi (test)

- |                                 |                                     |
|---------------------------------|-------------------------------------|
| a. Operasyon öncesi             | b. Operasyon sırasında              |
| c. Operasyon sırasında sond ile | d. Emdogain® ve membran uygulanması |
| e. Flebin dikilmesi             | f. Operasyon sonrası 6. ay sond ile |
| g. Operasyon sonrası 6. ay      | h. Operasyon sonrası 6. ay          |
| h. Başlangıç radyografisi       | i. 6. ay radyografisi               |

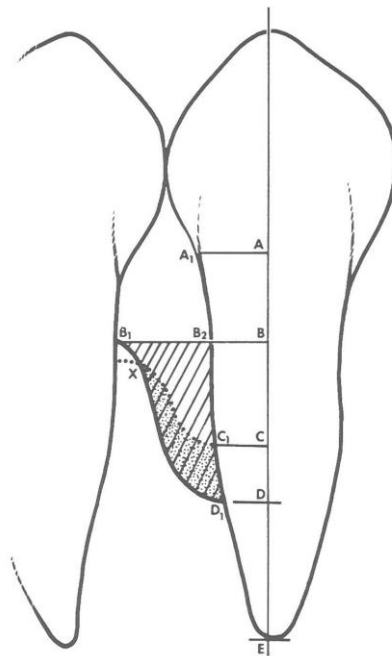
### 3.7. Radyografik Değerlendirmeler

#### 3.7.1. Periapikal film üzerinde yapılan değerlendirmeler

Paralel teknik ve film tutucuları kullanılarak oklüzal stentler aracılığı ile dijital radyograflar alındı. İmage J analiz programı ile<sup>16</sup> başlangıçta ve 6. ayda elde edilen görüntüler incelendi.

##### 3.7.1.1. Anatomik noktalar

Periodontal ligament aralığının devamlılık gösterdiği bölgenin en koronal noktası defekt tabanı (DT) olarak belirlendi. Periodontal ligament aralığının anlaşılamadığı durumlarda alveoler kretinin kök yüzeyi ile temas noktası sınır olarak belirlendi. Her iki noktanın seçildiği durumlarda periodontal ligamentin belirlediği nokta kemik defekti, alveoler kretin kök yüzeyi ile kesiştiği nokta ise alveol kreti (AK) olarak belirlendi. A noktası mine sement sınırı, B noktası kemik defektinin en koronal noktası ve D noktası kemik defektinin en apikal noktası olarak belirlendi. Radyografideki anatomik noktalar Şekil-17’de gösterilmiştir (Eickholz ve ark., 1996).



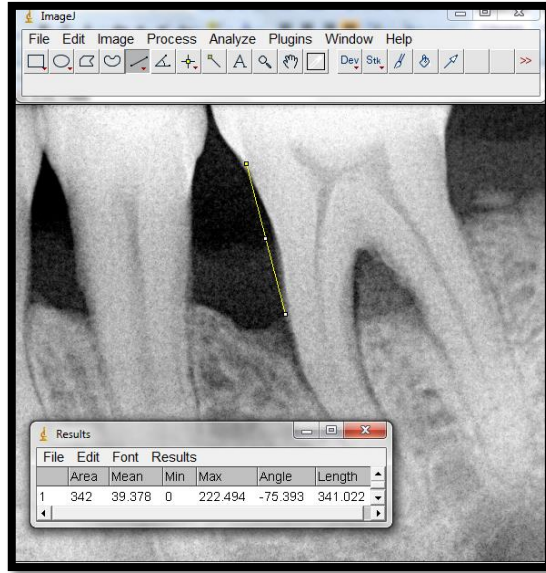
- A: Mine sement sınırı (MSS)
- B: Kemik defektinin en koronal noktası
- D: Kemik defektinin en apikal noktası (DT)

Şekil 17. Radyografideki anatomik noktalar (Steffensen and Weber, 1989)

<sup>16</sup> İmage J, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA

### 3.7.1.2. Vertikal kemik yüksekliği değişimi (VKYD) (Steffensen and Weber, 1989)

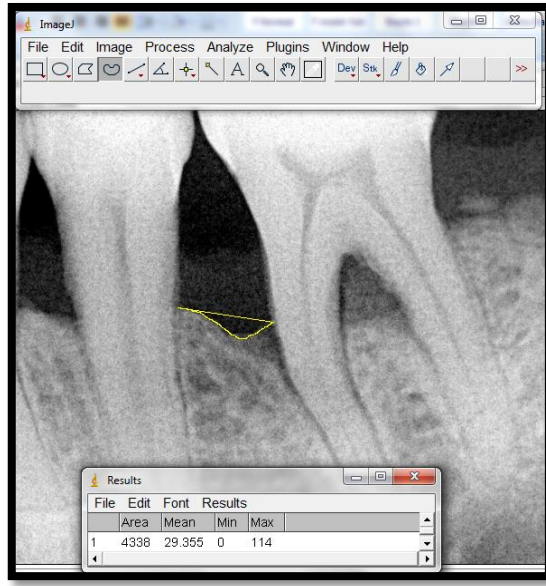
MSS'den DT'ye olan uzaklığın başlangıca göre 6. ayda değişimi ölçülerek hesaplandı. Şekil-18'de vertikal kemik yüksekliğinin ölçülmesi gösterilmiştir.



Şekil 18. Vertikal kemik yüksekliğinin ölçülmesi

### 3.7.1.3. Defekt alan değişimi (DALD) (Steffensen and Weber, 1989)

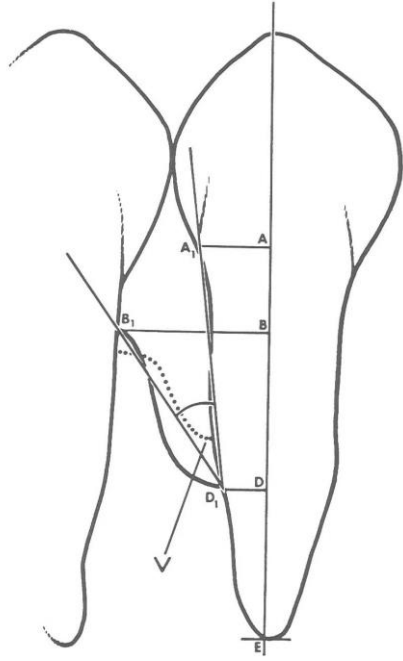
Başlangıçta ve 6. ayda bilgisayar programı ile defekt alan değişimi hesaplandı. Şekil-19'da defekt alan sınırlarının çizilerek ölçülmesi gösterilmiştir.



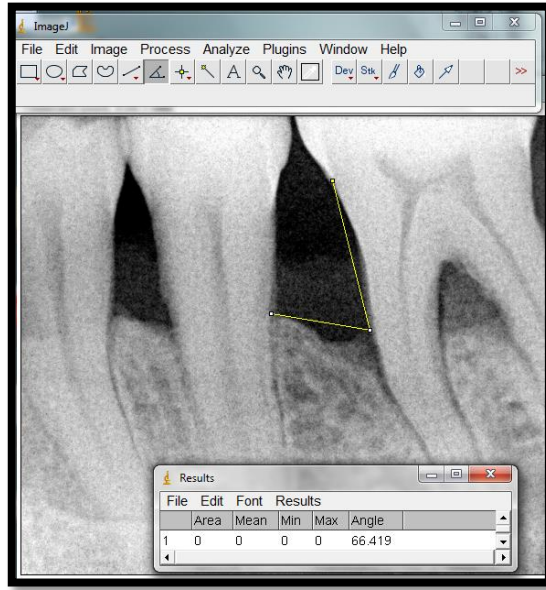
**Şekil 19.** Defekt alan sınırlarının çizilerek ölçülmesi

#### **3.7.1.4. Defekt açı değişimi (DAÇD) (Steffensen and Weber, 1989)**

MSS'den DT'ye çizilen çizgi ile DT'den defektin komşu dışteki en koronal noktasına çizilen iki çizgi arasındaki açı başlangıçta ve 6. aydaki değişimi hesaplandı. Şekil-20 ve Şekil-21'de defekt açısının ölçülmesi gösterilmiştir.



**Şekil 20.** Defekt açısı (Steffensen and Weber, 1989)

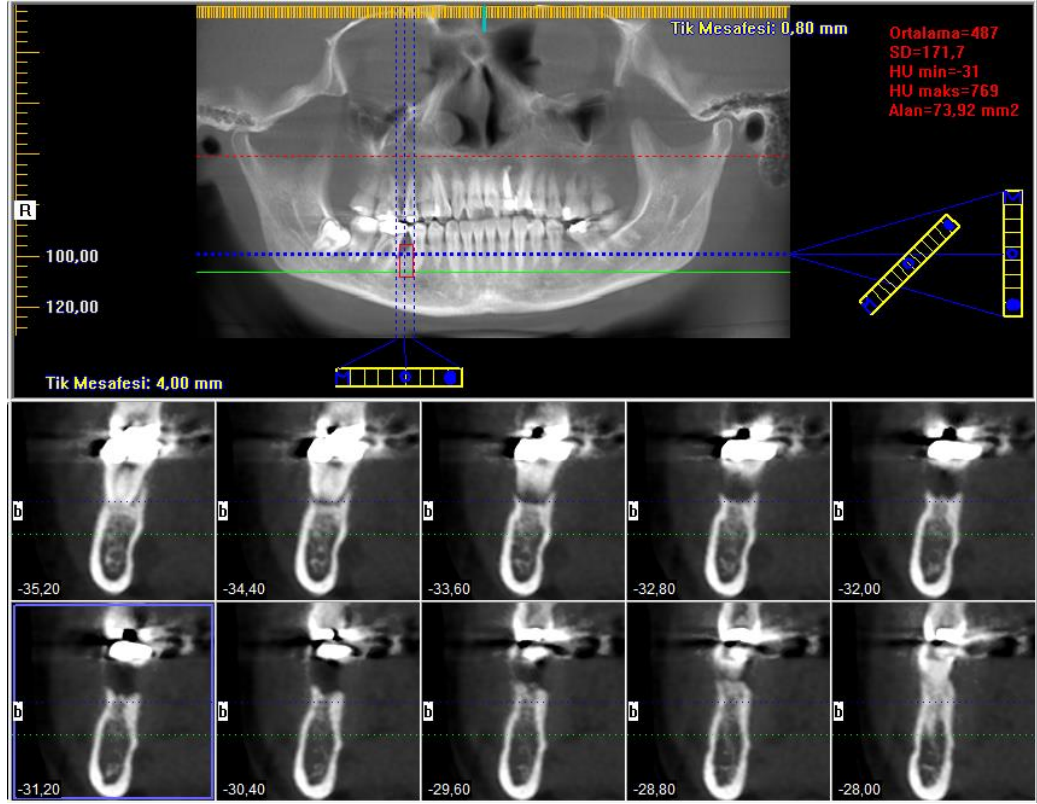


**Şekil 21.** Defekt açısının ölçülmesi

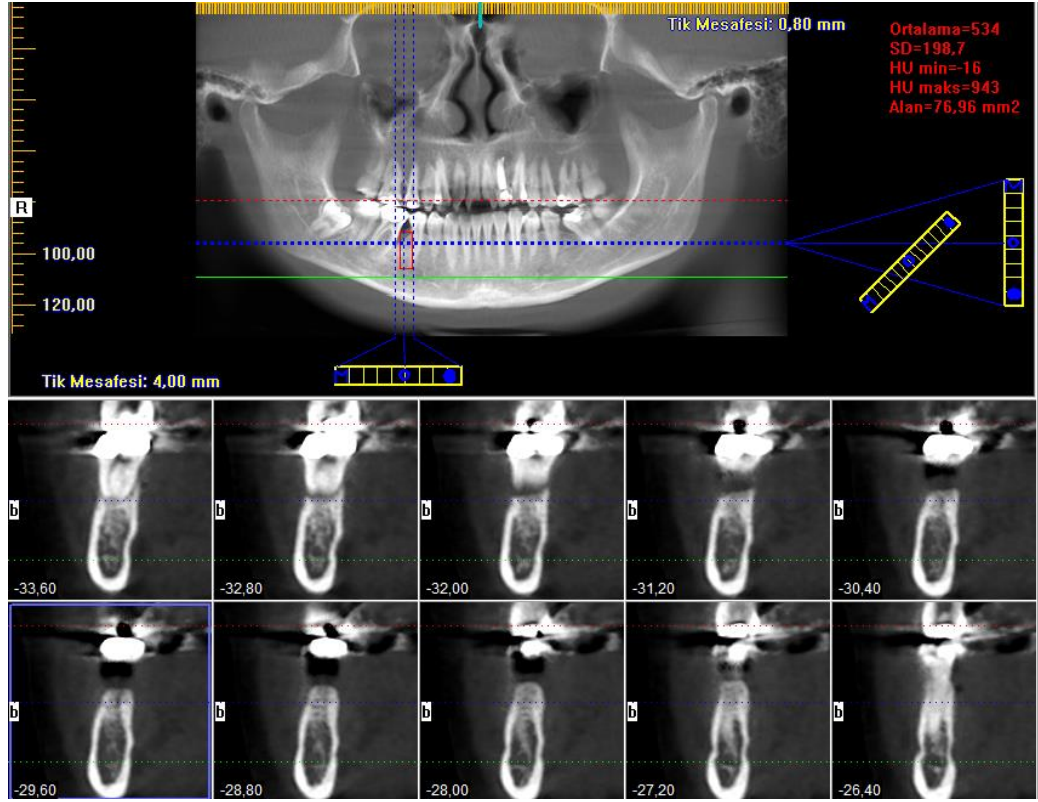
### 3.7.1.5. Kemik yoğunluk değişimi (KYD)

Başlangıçta ve 6. ayda CBCT'nin kendi analiz programı aracılığı ile kemik yoğunluk değişimi (KYD) ölçüldü. Aynı hastanın 2 CBCT görüntüsü arasında standardizasyonu sağlamak amacıyla defekt tepesinden kök ucuna tüm defekti

kapsayacak şekilde ölçüm yapıldı. Şekil-22’de başlangıçta kemik yoğunluk değerinin ölçülmesi ve Şekil-23’de 6. ayda kemik yoğunluk değerinin ölçülmesi gösterilmiştir.



Şekil 22. Başlangıçta kemik yoğunluk değerinin ölçülmesi



Şekil 23. 6. ayda kemik yoğunluk değerinin ölçülmesi

### 3.8. *In vitro* Ortamda Yapılan Çalışmalar

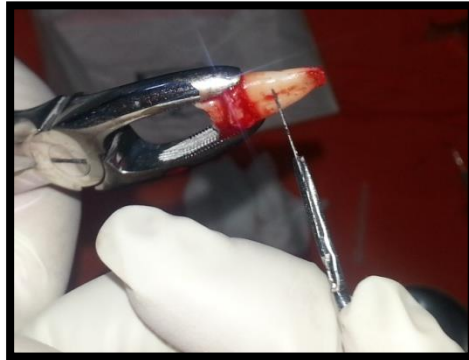
#### 3.8.1. Eksplant kültürlerinin oluşturulması

Periodontal ligament dokusu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı'na başvuran 18 yaş üstü hastaların küçük azı dişlerinin ortodontik çekimi sırasında elde edildi. Hastalar çalışma kapsamından tam olarak bilgilendirilerek, Etik Kurul raporu doğrultusunda onay alındı. Diş çekimleri ameliyathanede steril şartlarda gerçekleştirildi. Lokal anestezi uygulanması sonrasında No:15 Bard-Parker bistürisi kullanılarak dişin vestibül ve lingual/palatinal yüzlerinde kole bölgesinden sulküler ensizyon gerçekleştirilerek, periost elavatörü ile mukoperiostal flepler kaldırıldı. Küçük azı davyesi ile dişlerin çekimi gerçekleştirildi. Ortodontik nedenle küçük azı dişinin çekimi Şekil 24'te gösterilmiştir. No:11 steril Bard-Parker bistürisi ile kök yüzeylerinin 1/3'lük orta kısmındaki periodontal ligament dokusu kazındı ve fosfat dengeli tuz çözeltisi (PBS) içeren 15 ml'lik santrifüj tüpüne aktarıldı. Steril bistüri ile kazınan periodontal ligament dokusu Şekil-25'te

gösterilmiştir. Kazınan periodontal ligament dokusunun santrifüj tüpüne aktarılması Şekil 26'da gösterilmiştir. Hücreleri içeren doku eksplantı hücre kültür ortamına aktarıldı. 15 ml'lik santrifüj tüplerinde bulunan PBS 10 ml'lik serolojik pipet ile boşaltıldı ve doku eksplantları 60 mm ya da 35 mm'lik steril petri kaplarına aktarıldı. 3 ardışık yıkama ardından doku eksplantları No:15 Bard-Parker bistürüsü ile 1 mm<sup>3</sup>'den küçük partiküllere ayrıldı. 1000 µl'lik mikropipet ucu ile toplanan partiküller 8-10 ml hacminde hücre kültür vasatı içeren 25 cm<sup>2</sup>'lik hücre kültür flasklarına aktarıldı. Hücre kültür vasatı içeren 25 cm<sup>2</sup>'lik hücre kültür flaskı Şekil-27'de gösterilmiştir.



**Şekil 24.** Ortodontik nedenle küçük azı dişinin çekimi



**Şekil 25.** Steril bistüri ile kazınan periodontal ligament dokusu



**Şekil 26.** Kazınan periodontal ligament dokusunun santrifüj tüpüne aktarılması



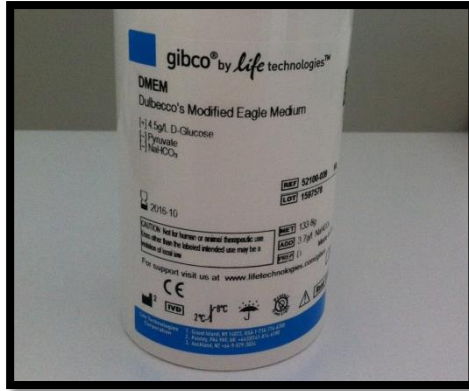
**Şekil 27.** Hücre kültür vasatı içeren 25 cm<sup>2</sup>'lik hücre kültür flaskı

### **3.8.2. Hücre kültür vasatı'nın oluşturulması**

Toz halindeki DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium- L-glutamin içeren ve glikozla zenginleştirilmiş formülasyon) derişimi 10L'de 133,8 g şeklindedir. 500 ml'lik steril filtre kabına 500 ml distile su; 6,69 g DMEM ve derişimi 3,7g/L olan sodyum bikarbonattan 1,85 g eklendi. Toz halindeki DMEM Şekil-28'de gösterilmiştir. Süzme işlemi sonrasında 500 ml steril DMEM çözeltisi elde edildi. -20 °C'de saklanan 500 ml'lik Fetal Buzağı Serum (FBS) işlemlerden 1 gün önce + 4°C'de çözöldü. Fetal Buzağı Serum Şekil-29'da gösterilmiştir. Çözölen FBS 15 ml ve 50 ml'lik santrifüj tüplerine bölünerek -20 °C'de donduruldu. 100 IU penisilin ve 50 µg/ml streptomisin çözeltisi 15 ml'lik steril santrifüj tüplerine 5 ml'lik porsiyonlar halinde ayrılarak -20 °C'de donduruldu. Penisilin-streptomisin çözeltisi Şekil-30'da gösterilmiştir. Esansiyel olmayan amino asit (NEAA) çözeltisi 15 ml'lik santrifüj tüplerine 5 ml'lik porsiyonlar

halinde ayrılarak -20 °C’de donduruldu. Esansiyel olmayan amino asit çözeltisi Şekil-31’de gösterilmiştir.

Laminar hava kabiniinde 50 ml’lik santrifüj tüplerinde hücre kültür vasatı oluşturuldu. 50 ml’lik santrifüj tüpüne 39 ml DMEM, 10 ml FBS, 500 µl NEAA eklendi. Sonuç olarak %10 FBS, %1 Pen/Strep ve %1 NEAA kullanıldı. Hücre kültür vasatından 8-10 ml’lik kısım 25 cm<sup>2</sup>’lik flask kabına aktarıldı ve %95 nem, %5 CO<sub>2</sub> ve 37 °C ısı ortamını sağlayan inkübatöre aktarıldı. %95 nem, %5 CO<sub>2</sub> ve 37 °C ısı ortamını sağlayan inkübatör Şekil-32’de gösterilmiştir. Flask inkübatörde bir süre bekletildikten sonra dışarıdan hava girişini sağlayacak şekilde kapağı yarı gevşek şekilde ayarlanıp doku kültürü oluşturuldu. Bu şartlar altında pH değeri hücre kültürü için uygun ortamı sağlayacak sınırlarda korundu. Yaklaşık olarak 3 günde bir flask içerisindeki vasatın yarısı uzaklaştırılarak flask içine aynı miktarda hücre kültür vasatı eklendi. Kültür süresi eksplant dokuların etrafında periodontal ligament fibroblastları çoğalana kadar yaklaşık 4-6 haftadır. Periodontal ligament doku eksplantları etrafında karakteristik iğ şeklindeki fibroblastlarlar faz kontrast mikroskobunda gözlemlendi. Şekil-33’de faz kontrast mikroskobu gösterilmiştir. Flask zemininin üçte ikilik kısmı tek tabakalı fibroblastik hücreler ile kaplandıktan sonra pasaj işlemlerine geçildi. 3 haftalık periodontal ligament fibroblastının faz kontrast mikroskobu ile görünümü (40X) Şekil-34’te gösterilmiştir.



**Şekil 28.** Toz halindeki DMEM



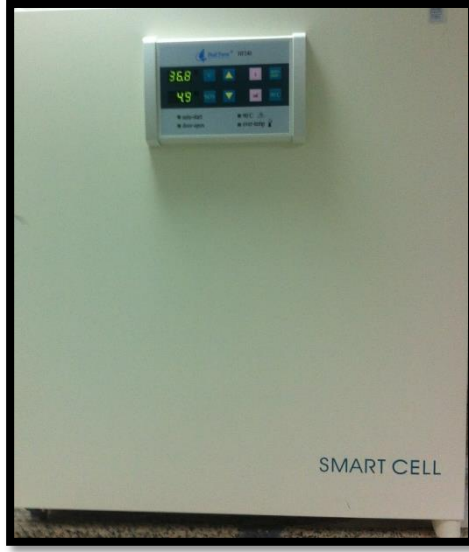
Şekil 29. Fetal buzağı serumu



Şekil 30. Penisilin-streptomisin çözeltisi



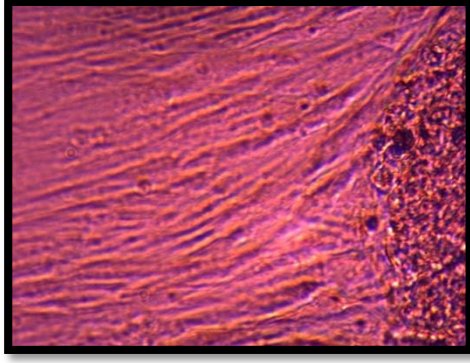
Şekil 31. Esansiyel olmayan amino asit çözeltisi



Şekil 32. %95 nem, %5 CO<sub>2</sub> ve 37 °C ısı ortamını sağlayan inkübatör



Şekil 33. Faz kontrast mikroskobu



**Şekil 34.** 3 haftalık periodontal ligament fibroblastının faz kontrast mikroskobu ile görünümü (40X)

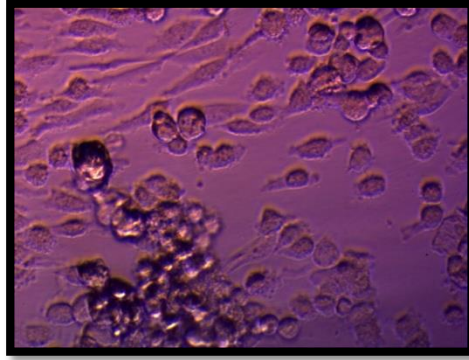
### **3.8.3. Periodontal ligament hücre pasajlarının oluşturulması**

Hücrelerin flask zeminini kapladığı ve birbirlerinin çoğalmasını baskıladığı bolluk aşamasında hücreler Tripsin/EDTA karışımı ile enzimatik olarak ayrıştırılarak yeni kaplara daha seyreltik ve homojen olarak aktarıldı. Derişimi % 0.05 tripsin/ 10 mM EDTA olan hazır solüsyon kullanıldı. Tripsin/EDTA karışımı Şekil 35’te gösterilmiştir. Hücre kültür flaskları içindeki vasatlar 10 ml’lik serolojik pipetler ile alınıp uzaklaştırıldı ve flask tabanları ılık PBS ile 3 kez yıkandı. Flaskların içine birkaç damla tripsin/EDTA ilave edildikten sonra 5 dakika inkübatörde bekletildi. Bu sürenin sonunda flasklar çıkartılarak hafif titreşimle tabanlarındaki ayrıışmayan hücre kümeleri ayrıştırıldı. Tripsin/EDTA uygulanması sonrası ayrılan hücreler (25X) Şekil-36’da gösterilmiştir. Enzimatik reaksiyonu durdurmak için flasklara 10 ml hücre kültür vasatı eklendi ve hücre içeren süspansiyon nazik tekrarlarla serolojik pipetle çekip bırakıldı. Flaskların tüm içeriği 15 ml’lik iki adet santrifüj tüpüne aktarılarak 800 rpm devirde 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj cihazı Şekil-37’de gösterilmiştir. Sürenin dolmasının ardından tüpler içindeki hücrelerin üzerinde kalan hücre çoğaltma vasatı uzaklaştırıldı ve dipteki hücre peleti üzerine steril mikropipet ile 1000 µl’lik çoğaltma vasatı eklendi ve elde edilen 2 ml hücre süspansiyonu kümeleşmeleri önlemek amacıyla nazik tekrarlarla steril mikropipetle karıştırıldı. Elde edilen hücre süspansiyonundan 10 µl alınarak Neubauer hemositometresinin grid yapısına damlatıldı ve faz kontrast mikroskobu ile sayım yapılarak ml içerisindeki toplam hücre miktarı belirlendi. Neubauer hemositometresi Şekil-38’de gösterilmiştir. Hemositometre ile toplam 0,1

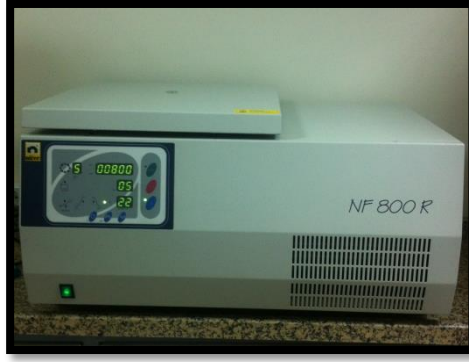
mm<sup>3</sup> hacimdeki hücre sayısı hesaplanmaktadır ve 16 küçük kareden oluşan 25 büyük kare içermektedir. Sayım yapılırken 16'lık küçük karede bulunan hücreler sayılarak ortalaması alındı ve elde edilen sayı 25 ile çarpılarak 0,1 mm<sup>3</sup> hacimdeki hücre sayısı elde edildi. Elde edilen sayı iki ile çarpılarak 2 ml içerisinde bulunan hücre sayısı elde edildi. 1. pasaj sonrası hemositometre ile hücre sayımı Şekil-39'da gösterilmiştir. Kalan hücre süspansiyonları içerisine 12 ml çoğaltma vasatı eklenerek seyreltilen hücreler 2 ya da 3 ayrı flaska eşit miktarlarda bölündü. Bu işlemin sonunda birinci pasaj yapılmış oldu ve flaskalar P1 olarak işaretlendi. Periodontal ligament fibroblastının 1. pasaj sonrası 5. gün faz kontrast mikroskobu ile görünümü (25X) Şekil-40'da gösterilmiştir.



**Şekil 35.** Tripsin/EDTA karışımı



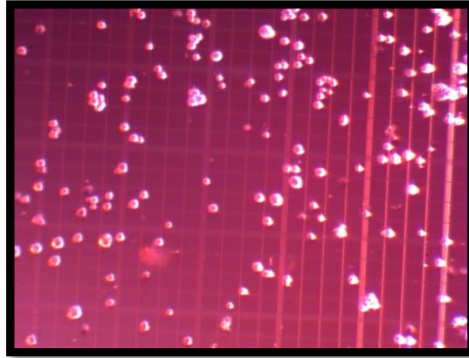
**Şekil 36.** Tripsin/EDTA uygulanması sonrası ayrılan hücreler (25X)



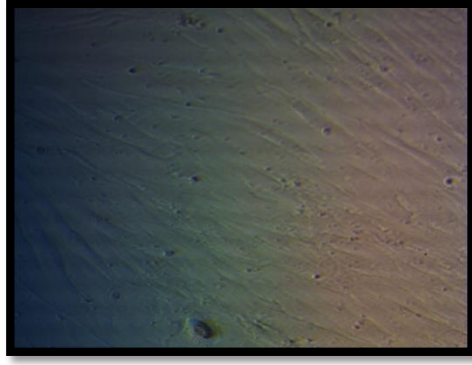
Şekil 37. Santrifüj cihazı



Şekil 38. Neubauer hemositometresi



Şekil 39. 1. pasaj sonrası hemositometre ile hücre sayımı



**Şekil 40.** Periodontal ligament fibroblastının 1. pasaj sonrası 5. gün faz kontrast mikroskobu ile görünümü (25X)

### **3.8.4. Periodontal ligament fibroblastlarının canlılığı ve proliferasyon deneyleri**

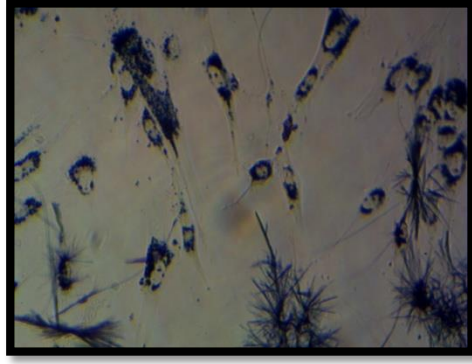
#### **3.8.4.1. Mine matriks protein solüsyonunun hazırlanması**

Deneysel mine matriks solüsyonu ticari olarak kullanılan periodontal rejenerasyon ürünü olan Emdogain® kullanılarak elde edildi. Emdogain derişimi 30mg/ml şeklindedir. MMP deneysel gruplarını oluşturmak için 4 farklı derişimde deneysel vasat hazırlandı. Mikropipet ucu ile etken solüsyon çekildi ve 12 ml hücre kültür vasatı içeren 15 ml'lik santrifüj tüplerine 4 farklı derişimde MMP elde edilecek şekilde eklendi ve karıştırıldı. 25µg/ml derişim elde etmek için 10µl, 50 µg/ml derişim elde etmek için 20µl, 100 µg/ml derişim elde etmek için 40µl ve 200 µg/ml derişim elde etmek için 80µl Emdogain® eklendi.

#### **3.8.4.2. Deneysel grupların oluşturulması**

3 farklı dişin periodontal ligament fibroblast hücreleri ikinci pasaj sonrası 4 farklı 96 kuyucuklu hücre kültür kabına her kuyucuğa yaklaşık 7000 hücre olacak derişimde ekildi. Hücreler kuyucuk tabanına tutunması için 24 saat inkübatörde bekletildi. 96 kuyucuk 3'e bölünerek her deney 3 kez tekrarlandı. İlk 12 kuyucuk boş bırakıldı, ikinci sıradaki 12 kuyucuğa sadece hücre kültür vasatı konuldu ve kontrol grubu olarak adlandırıldı. Üçüncü, dördüncü ve beşinci sıradaki 12 kuyucuğa ise 3 farklı dişin periodontal ligament fibroblast hücreleri her kuyucuğa 100 µl olmak üzere

ekildi. Dört gün boyunca dört farklı derişimde MMP solüsyonu kuyucuklara eklendi ve her günün sonunda kuyucuğa derişimi 5 mg/ml olan MTT solüsyonundan 10 µl eklendi ve 4 saat inkübatörde bekletildi. Bu sürenin sonunda hücreler üzerindeki tüm medyum uzaklaştırılarak 100 µl MTT çözücüsü ilave edildi ve hiç bekletilmeden spektrofotometrik olarak okutuldu. MTT hücre canlılık kiti; canlı hücrelerdeki mitokondriyal dehidrojenaz aktivitesi ile tetrazolyum tuzu yıkımı sonucu oluşan mor renkli formazan kristallerinin tespitini sağlamaktadır. MTT sonrası formazan kristallerinin görünümü Şekil-41’de gösterilmiştir. Sonuçların okunduğu absorbands 590 nm dalga boyu, referans 620 nm dalga boyu seçildi.



**Şekil 41.** MTT sonrası formazan kristallerinin görünümü

#### **3.8.5. Osteojenik indüksiyon deneysel ilaç derişimlerinin oluşturulması**

Osteojenik indüksiyon deneysel grupları oluşturmak için deksametazon, askorbik asit ve β- gliserofosfat hücre kültür vasatına farklı derişimlerde eklendi ve karıştırıldı. Osteojenik indüksiyonda kullanılan deneysel ilaçlar Şekil-42’de gösterilmiştir. Derişimi  $10^{-6}$  molar olan deksametazon hazırlamak için; 0,003925g deksametazon 10 ml distile suya eklendi ve seyreltmek amacıyla bu solüsyondan 10µl alınarak tekrar 10 ml distile suya eklendi. Derişimi 0,005g/ml olan askorbik asit hazırlamak için 5 ml distile suya 0,025 g askorbik asit eklendi. Derişimi 216,04 g/mol olan β- gliserofosfat hazırlamak için 5 ml distile suya 1,08 g β- gliserofosfat eklendi. 3 farklı ilaç derişimden mikropipet ucu ile 500 µl alınarak 50 ml hücre kültür vasatı içeren santrifüj tüpüne eklendi. Daha sonra elde edilen osteojenik indüksiyon solüsyonu steril enjektör filtresi kullanılarak başka bir 50 ml’lik santrifüj tüpüne aktarıldı.

MMP için deneysel grupları önceden anlatıldığı şekilde 4 farklı derişimde hazırlandı.

Osteojenik indüksiyon + MMP deneysel grubunu oluşturmak için 50 ml hücre kültür vasatı içeren osteojenik indüksiyon karışımından 4 farklı derişim elde edecek şekilde 15 ml'lik santrifüj tüpüne 6'şar ml eklendi ve karıştırıldı. 25µg/ml derişim elde etmek için 5µl, 50 µg/ml derişim elde etmek için 10µl, 100 µg/ml derişim elde etmek için 20µl ve 200 µg/ml derişim elde etmek için 40µl Emdogain® eklendi.



**Şekil 42.** Osteojenik indüksiyonda kullanılan deneysel ilaçlar

### **3.8.6. Farklılaşma sonrasında mineralizasyonun değerlendirilmesi (Alizarin Kırmızısı):**

#### **3.8.6.1. Deneysel grupların oluşturulması**

P1 ve sonraki pasajlardan elde edilen periodontal ligament fibroblast hücreleri santrifüj ve resüspansiyon işlemlerini takiben 24 kuyucuklu kültür kaplarına her kuyucukta yaklaşık 20000 hücre derişimi olacak şekilde ekildi. İkişer tane 3 ve 4 hafta olmak üzere 4 farklı 24 kuyucuk kullanıldı. 3 haftalık 24 kuyucuktan deney grubu olan 2'ye ayrılarak yarısına farklı derişimlerde MMP, diğer yarısına farklı derişimlerde MMP+osteojenik indüksiyon solüsyonu eklendi. 3 haftalık diğer 24 kuyucuğun yarısına sadece hücre kültür vasatı diğer yarısına ise sadece osteojenik indüksiyon solüsyonu eklendi. 4 haftalık 24 kuyucuktan deney grubu olan 2'ye ayrılarak yarısına farklı



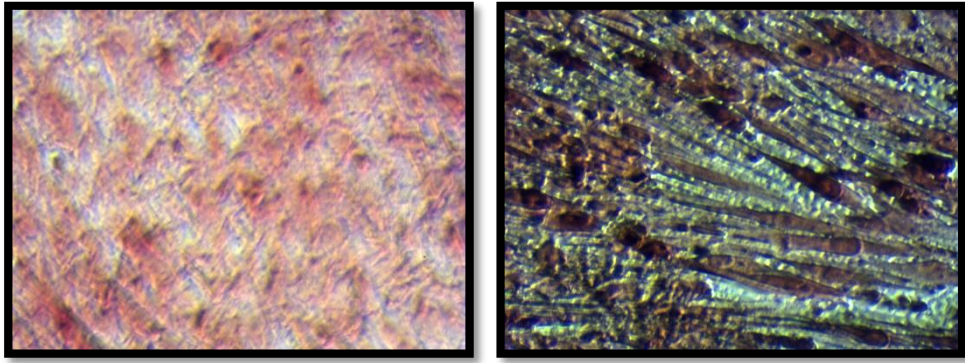
### 3.8.6.2. Alizarin kırmızısı ile mineralizasyonun değerlendirilmesi

Alizarin kırmızısı; kültür ortamındaki  $Ca^{++}$  içeren minerallere tutunarak kırmızı boya gösteren bir mineralizasyon işaretçisidir. Alizarin kırmızısı Şekil-45'te gösterilmiştir. Deney ve kontrol kültürlerinde alizarin boyaması ile *in vitro* osteogeneze bağlı mineralizasyon odakları incelendi. Mineralizasyon düzeyi, invert ışık mikroskobunda her örnekten rastgele seçilen 5 alanda olmak üzere, ortalama değerlerde mineralizasyon düzeyleri incelenerek gerçekleştirildi. Hücre kültür vasatı içeren kuyucukların alizarin kırmızısı ile boyandıktan sonra invert ışık mikroskobunda görünümü (3 hafta- 4 hafta) Şekil-46'da, Osteojenik indüksiyon deneysel grubunu içeren kuyucukların alizarin kırmızısı ile boyandıktan sonra invert ışık mikroskobunda görünümü (3 hafta- 4 hafta) Şekil-47'de, Osteojenik indüksiyon+ MMP deneysel grubunu içeren kuyucukların alizarin kırmızısı ile boyandıktan sonra invert ışık mikroskobunda görünümü (3 hafta- 4 hafta) Şekil-48'de ve MMP deneysel grubunu içeren kuyucukların alizarin kırmızısı ile boyandıktan sonra invert ışık mikroskobunda görünümü (3 hafta- 4 hafta) Şekil-49'da gösterilmiştir.

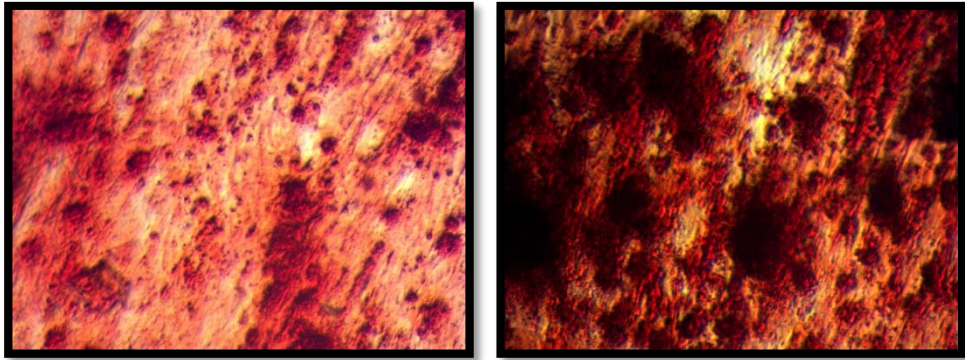
Alizarin kırmızısı derişimi 2g/100ml şeklindedir. 50 ml steril distile su içine 1 g alizarin kırmızısı eklendi ve iyice karıştırıldı. pH değeri 4,6 olarak pH metrede ölçüldü. 24 kuyucuklarda bulunan deney ve kontrol grubundaki hücre kültür vasatı hücrelere zarar vermeden 10 ml'lik serolojik pipetlerle alınıp uzaklaştırıldı ve hücreler 2 kez 1 ml PBS ile yıkandı. Daha sonra hücreler %10 formalin ile fikse edilerek 15 dakika beklendi. Formalinin uzaklaştırılması ardından hücreler 2 kez distile su ile yıkandı. Distile su uzaklaştırıldıktan sonra 1 ml alizarin kırmızısı 10 ml'lik serolojik pipetlerle eklendi. 5 dakika beklendikten sonra 2 kez distile su ile yıkandı. Distile su uzaklaştırılarak invert ışık mikroskobunda incelendi.



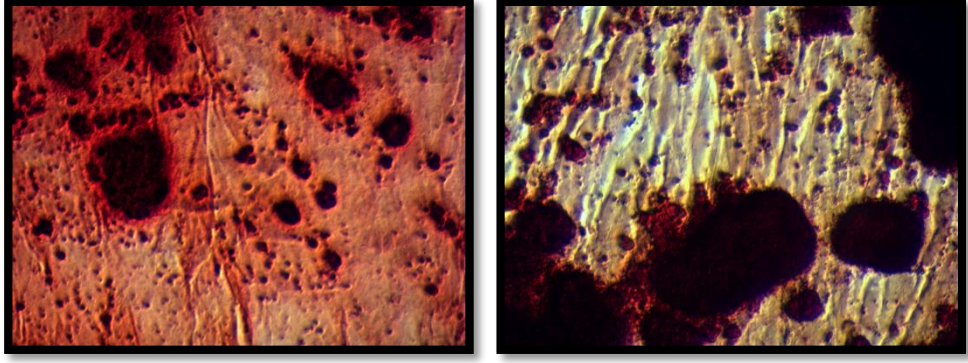
**Şekil 45.** Alizarin kırmızısı



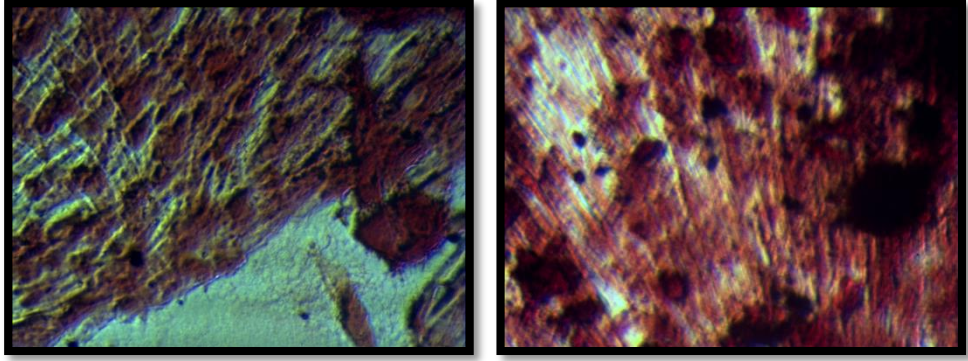
**Şekil 46.** Hücre kültür vasatı içeren kuyucukların alizarin kırmızı ile boyandıktan sonra invert ışık mikroskopunda görünümü (3 hafta- 4 hafta)



**Şekil 47.** Osteojenik indüksiyon deneysel grubunu içeren kuyucukların alizarin kırmızı ile boyandıktan sonra invert ışık mikroskopunda görünümü (3 hafta- 4 hafta)



**Şekil 48.** Osteojenik indüksiyon+ MMP deneysel grubunu içeren kuyucukların alizarin kırmızısı ile boyandıktan sonra invert ışık mikroskopunda görünümü (3 hafta- 4 hafta)



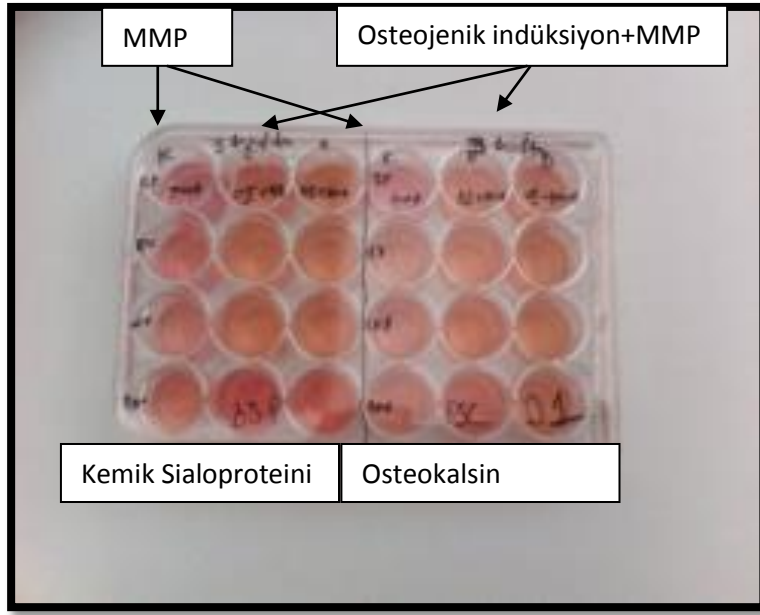
**Şekil 49.** MMP deneysel grubunu içeren kuyucukların alizarin kırmızısı ile boyandıktan sonra invert ışık mikroskopunda görünümü (3 hafta- 4 hafta)

### **3.8.7. Farklılaşma sonrasında osteojenik işaretçilerin belirlenmesi- osteokalsin ve kemik sialoproteini**

#### **3.8.7.1. Deneysel grupların oluşturulması**

Üç farklı dişin üçüncü pasajından elde edilen periodontal ligament fibroblast hücreleri santrifüj ve resüspansiyon işlemlerini takiben 24 kuyucuklu kültür kaplarına her kuyucukta yaklaşık 20000 hücre derişimi olacak şekilde ekildi. Her diş farklı 24 kuyucuğa ekilmek üzere 3 farklı 24 kuyucuk kullanıldı. Her 24 kuyucuk 2'ye ayrılarak osteokalsin ve kemik sialoproteini grupları belirlendi. Osteokalsin grubunun yukarıdan

aşağı ilk 4 kuyucuğuna farklı derişimlerde MMP eklendi ve yukarıdan aşağı diğer 2 grubuna ise farklı derişimlerde MMP+ osteojenik indüksiyon solüsyonu eklendi. Diğer yarıda bulunan kemik sialoproteini grubuna da aynı işlemler uygulandı. Tüm bu işlemler diğer dişler içinde tekrarlandı. Vasatlar 3 hafta boyunca iki günde bir yenilendi. Osteokalsin ve kemik sialoprotein deneysel grupları Şekil-50’de gösterilmiştir.



**Şekil 50.** Osteokalsin ve kemik sialoproteini deneysel grupları

### 3.8.7.2. Osteojenik işaretçilerin belirlenmesi

3 haftalık osteojenik indüksiyon süresinin bitmesi ardından 24 kuyucuklarda bulunan hücreler ve osteojenik indüksiyon uygulanmış hücre kültür vasatı ayrı ayrı işleminden geçirilerek eppendorf tüplerine aktarıldı. 24 kuyucuklarda bulunan hücre kültür vasatı steril mikropipet ucu ile 500 µl alınarak 15 ml’lik santrifüj tüplerine aktarıldı. 2000 devir hızda 25 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminin ardından santrifüj tüplerinden mikropipet ucu ile 500 µl alınarak eppendorf tüplerine aktarıldı. -20°C’de donduruldu. 24 kuyucuklarda bulunan hücreler 2 kez 1’er ml serum fizyolojik ile yıkandı ve serolojik pipet ile her kuyucuğa 3 damla tripsin eklendi. 5 dk inkübatörde bekletildikten sonra tripsinin aktivitesini durdurmak için her kuyucuğa 4 ml hücre kültür vasatı eklendi. Hücre kültür vasatı ile içinde yüzen hücreler 15 ml’lik santrifüj tüplerine aktarılarak 800 devirde 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüplerinde bulunan hücre

kültür vasatı serolojik pipetler ile alındı, dipte kalan hücreler üzerine 1 ml PBS eklendi. Steril mikropipet ucu ile hücreler eşit bir şekilde dağıtıldı. Daha sonra santrifüj tüplerindeki hücreler 3 kez  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de donduruldu ve tekrar çözündürüldü. Çözünmüş halde bulunan hücreler 2000 devirde 20 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası santrifüj tüplerinden 500  $\mu\text{l}$  alınarak ependorf tüplerine aktarıldı ve  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Osteojenik farklılaşmayı hücresel düzeyde göstermek için osteogenez işaretçisi olan kemik sialoprotein ve osteokalsin işaretçilerinin ifadesi ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) yöntemiyle incelendi. Çalışmamızda İnsan Kemik Sialoprotein ELISA Kiti ve İnsan Kemik Osteokalsin ELISA Kiti olmak üzere toplam 2 adet ELISA kit kullanıldı.

İnsan Kemik Sialoprotein ELISA Kiti enzime bağlı immün bağlayıcı Sandwich tekniği metoduyla insan kemik sialoprotein seviyesinin idrar, tükürük, süt ve hücre kültürü örneklerinde belirlenmesi amacıyla kullanılan kittir. Kullanılan kitin en düşük saptama düzeyi 0.5 ng/ml ve en yüksek saptama düzeyi 150 ng/ml'dir. Duyarlılığı 0.435 ng/ml'dir.

#### Uygulama Aşamaları:

1. Bütün kit ajanları ve örnekler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi.
2. Kitte bulunan bir tane orijinal standart dilüsyonlarla seyreltildi. 80 ng/ml derişim elde etmek için 120  $\mu\text{l}$  orijinal standart ve 120  $\mu\text{l}$  standart dilüsyon eklendi ve standart 1 elde edildi. 40 ng/ml derişim elde etmek için 120  $\mu\text{l}$  standart 1 ve 120  $\mu\text{l}$  standart dilüsyon eklendi. 20 ng/ml derişim elde etmek için 120  $\mu\text{l}$  standart 2 ve 120  $\mu\text{l}$  standart dilüsyon eklendi. 10 ng/ml derişim elde etmek için 120  $\mu\text{l}$  standart 1 ve 120  $\mu\text{l}$  standart dilüsyon eklendi
3. Kuyucuklarda birinci sütunun ilk 5 satırında bulunan kuyucuklara sırasıyla 50  $\mu\text{l}$  standart ilave edildi. Diğer test kuyucuklarına (2-8 sütunlara) 40  $\mu\text{l}$  örnek ilave edildi.
4. Birinci sütun hariç diğer kuyucuklara 10  $\mu\text{l}$  Biotin antibody eklendi ve daha sonra tüm kuyucuklara 50  $\mu\text{l}$  Streptavidin-HRP ilave edildi.
5. 96 kuyucuklu plaka'nin üstü bantla sıkı bir şekilde kapatılarak oda sıcaklığında son örneğin konulmasından sonra 1 saat boyunca inkübe edildi.

6. Yıkama solüsyonu distile su ile 30 kez sulandırılarak hazırlandı. Sürenin sonunda 96 kuyucuk yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
7. Yıkama işlemi bittikten sonra kromojen solüsyon A'dan 50 µl ve kromojen solüsyon B'den 50 µl ilave edilerek 10 dakika boyunca inkübe edildi.
8. En son olarak mavi rengin sarıya dönmesini sağlayan 50 µl reaksiyon sonlandıran solüsyonu tüm kuyucuklara ilave edilerek reaksiyon sonlandırıldı.
9. Reaksiyonun sonlandırılmasından hemen sonra absorbans değerleri 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucu ile okundu.
10. Kemik sialoprotein seviyesinin saptanmasında standart eğri kullanıldı. Kemik sialoprotein absorbans değerleri Curve Expert programı aracılığı ile hesaplandı.

İnsan Osteokalsin ELISA Kiti enzime bağlı immün bağlayıcı Sandwich tekniği metoduyla insan kemik sialoprotein seviyesinin idrar, tükürük, süt ve hücre kültürü örneklerinde belirlenmesi amacıyla kullanılan kittir. Kullanılan kitin en düşük saptama düzeyi 0.5 ng/ml ve en yüksek saptama düzeyi 150 ng/ml'dir. Duyarlılığı 0.458 ng/ml'dir.

#### Uygulama Aşamaları:

1. Bütün kit ajanları ve örnekler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi.
2. Kitte bulunan bir tane orijinal standart standart dilüsyonlarla seyreltildi. 80 ng/ml derişim elde etmek için 120 µl orijinal standart ve 120 µl standart dilüsyon eklendi ve standart 1 elde edildi. 40 ng/ml derişim elde etmek için 120 µl standart 1 ve 120 µl standart dilüsyon eklendi. 20 ng/ml derişim elde etmek için 120 µl standart 2 ve 120 µl standart dilüsyon eklendi. 10 ng/ml derişim elde etmek için 120 µl standart 1 ve 120 µl standart dilüsyon eklendi
3. Birinci sütunun ilk 5 satırında bulunan kuyucuklara sırasıyla 50 µl standart ilave edildi. Diğer test kuyucuklarına (2-8 sütunlara) 40 µl örnek ilave edildi.
4. Birinci sütun hariç diğer kuyucuklara 10 µl Biotin antibody eklendi ve daha sonra tüm kuyucuklara 50 µl Streptavidin-HRP ilave edildi.
5. 96 kuyucuklu plaka'nin üstü bantla sıkı bir şekilde kapatılarak oda sıcaklığında son örneğin konulmasından sonra 1saat boyunca inkübe edildi.
6. Yıkama solüsyonu distile su ile 30 kez sulandırılarak hazırlandı. Sürenin sonunda 96 kuyucuk yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.

7. Yıkama işlemi bittikten sonra kromojen solüsyon A'dan 50 µl ve kromojen solüsyon B'den 50 µl ilave edilerek 10 dakika boyunca inkübe edildi.
8. En son olarak mavi rengin sarıya dönmesini sağlayan 50 µl reaksiyon sonlandırıcı solüsyonu tüm kuyucuklara ilave edilerek reaksiyon sonlandırıldı.
9. Reaksiyonun sonlandırılmasından hemen sonra absorbans değerleri 450nm dalga boyunda ELISA okuyucu ile okundu.
10. Osteokalsin seviyesinin saptanmasında standart eğri kullanıldı. Kemik sialoprotein absorbans değerleri curve expert programı aracılığı ile hesaplandı.

### 3.9. İstatistik Analiz

Klinik, radyografik bulgular ve in vitro ortamda yapılan çalışmalardan elde edilen verilerin analizinde SPSS 15 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) istatistik paket programı kullanılmıştır. Klinik ve radyografik verilerin normal dağılıp dağılmadığını anlamak için Kolmogorov Smirnov normalite testi uygulanmıştır. Yapılan değerlendirmede bazı verilerin normal dağılım göstermedikleri belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Buna bağlı olarak bağımlı iki grubun karşılaştırılmasında parametrik olmayan yöntemlerden Wilcoxon testi, normal dağılım gösteren değerler için ise Eşleştirilmiş t testi uygulanmıştır. Bağımsız iki grubun değerlendirilmesinde normal dağılım göstermeyen veriler için Mann Whitney U testi, normal dağılım gösteren veriler için ise Student t testi kullanılmıştır. Değişkenlerin birlikte değişim miktarlarını ve yönlerini incelemek amacıyla Spearman Rho korelasyon testinden yararlanılmıştır. In vitro ortamda elde edilen ikiden fazla gruba ait verilerin analizinde normal dağılım göstermeyen veriler için parametrik olmayan yöntemlerden Kruskal Wallis varyans analizi testi uygulanmıştır. İstatistiksel olarak farklılık gösteren gruplarda farklılığın hangi grup(lar)dan kaynaklandığını belirleyebilmek amacıyla Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

Sonuçların istatistik olarak anlamlılığının değerlendirmesinde %95 güven aralığı ve 0,05 önem seviyesi dikkate alınmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Demografik Bulgular

Çalışmada elde edilen verilere ilişkin demografik bulgular Tablo-4’de belirtilen şekilde elde edilmiştir.

**Tablo 4.** Hastaların sayısı, defekt sayısı, cinsiyet, yaş, çene, kadran ve dişlerinin gruplara göre dağılımı

|                      |                 | <b>MMP+ YDR</b> | <b>YDR</b> |
|----------------------|-----------------|-----------------|------------|
| <b>Hasta Sayısı</b>  |                 | 18              | 15         |
| <b>Defekt Sayısı</b> |                 | 22              | 19         |
| <b>Cinsiyet</b>      |                 |                 |            |
|                      | <b>Erkek</b>    | 8               | 4          |
|                      | <b>Kadın</b>    | 10              | 11         |
| <b>Ortalama Yaş</b>  |                 | 33,04±6,16      | 33,57±7,58 |
| <b>Yaş Aralığı</b>   |                 | 21-46           | 21-45      |
| <b>Çene</b>          | <b>Üst çene</b> | 17              | 10         |
|                      | <b>Alt çene</b> | 5               | 9          |
| <b>Kadran</b>        | <b>Sağ</b>      | 12              | 16         |
|                      | <b>Sol</b>      | 10              | 3          |
| <b>Diş</b>           | <b>Keser</b>    | 1               | 1          |
|                      | <b>Premolar</b> | 2               | 7          |
|                      | <b>Molar</b>    | 19              | 11         |

Tablo-4’de elde edilen veriler incelendiğinde, çalışmaya yaş ortalaması 33,29±6,77 olan 21 kadın, 12 erkek toplam 33 hasta dahil edildiği görülmektedir. Otuz üç hastada bulunan toplam 41 defektin 22’si MMP+YDR uygulanan test grubunda, 19’u sadece YDR uygulanan kontrol grubunda opere edilmiştir. Hastaların hepsi altıncı ay kontrollerini tamamlamıştır.

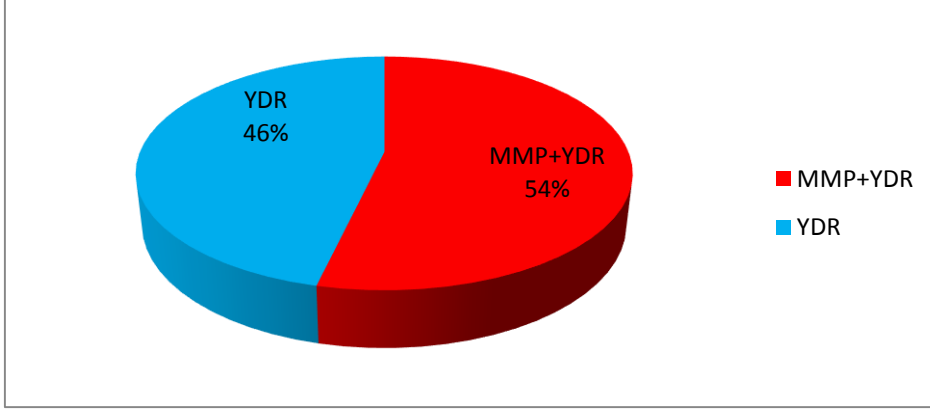
MMP+YDR uygulanan gruptaki defektlerin 7'si sağ üst çenede, 10'u sol üst çenede ve 5'i sağ alt çenede bulunmaktadır. YDR uygulanan gruptaki defektlerin 8'i sağ üst çenede, 2'si sol üst çenede, 1'i sol alt çenede ve 8'i sağ alt çenede bulunmaktadır.

MMP+YDR uygulanan grupta 1 keser diş, 2 premolar diş, 19 molar diş tedavi edilmiştir. YDR uygulanan grupta ise 1 keser diş, 7 premolar diş, 11 molar tedavi edilmiştir. Çalışmamızda 3 duvarlı kemik defektleri değerlendirilmiştir.

MMP+YDR uygulanan gruptaki bireylerin yaş ortalaması  $33,04 \pm 6,16$ ; YDR uygulanan gruptaki bireylerin yaş ortalaması  $33,57 \pm 7,58$  olarak belirlenmiştir. İki grup arasındaki yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Birden fazla defekti bulunan hastalarda defektler hastalarda iki gruba eşit olarak dağıtılmıştır.

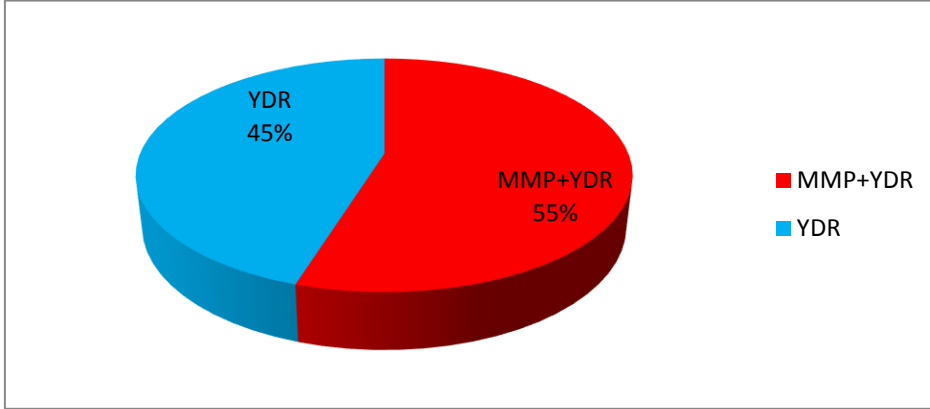
Hastaların kendilerine reçete edilen ilaçları düzenli olarak aldıkları öğrenilmiştir. Hiçbir vakada apse, aşırı ödem, aşırı kanama, sutureların atması gibi postoperatif komplikasyon gözlenmemiştir. Bazı hastalarda operasyon sonrası tedavi edilen bölgede hassasiyet şikayeti oluştuğu fakat yaklaşık 1 ay sonra şikayetlerinin azaldığu tespit edilmiştir. Uygulanan rejenerasyon ve YDR materyaline bağlı herhangi bir toksik etki ya da iltihabi reaksiyon saptanmamıştır.

MMP+YDR ve YDR uygulanan gruplarda defekt sayısının dağılımı istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Hastalarda bulunan defektlerin % 54'ü MMP+YDR ile, % 46'sı sadece YDR ile tedavi edilmiştir. Gruplara göre defekt sayısının dağılımı şekil-51'de gösterilmiştir.



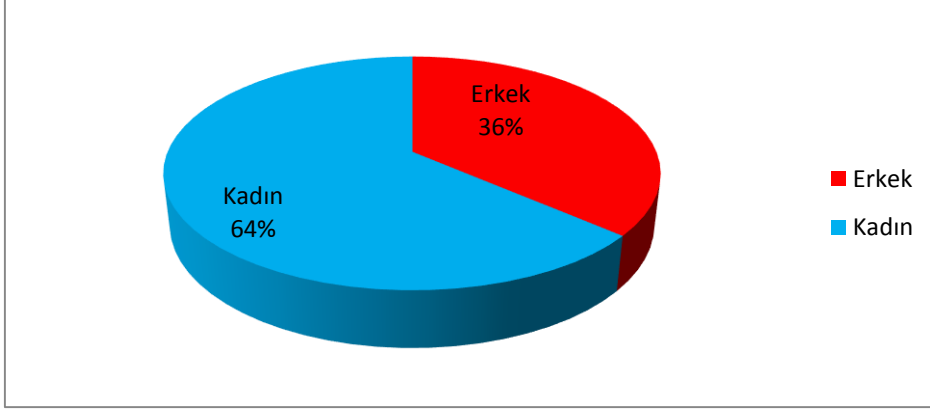
**Şekil 51.** Gruplara göre defekt sayısının dağılımı

MMP+YDR ve YDR uygulanan gruplarda hasta sayısının dağılımı istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Hastaların % 55'i MMP+YDR ile, % 45'i sadece YDR ile tedavi edilmiştir. Gruplara göre hasta sayısının dağılımı Şekil-52'de gösterilmiştir.



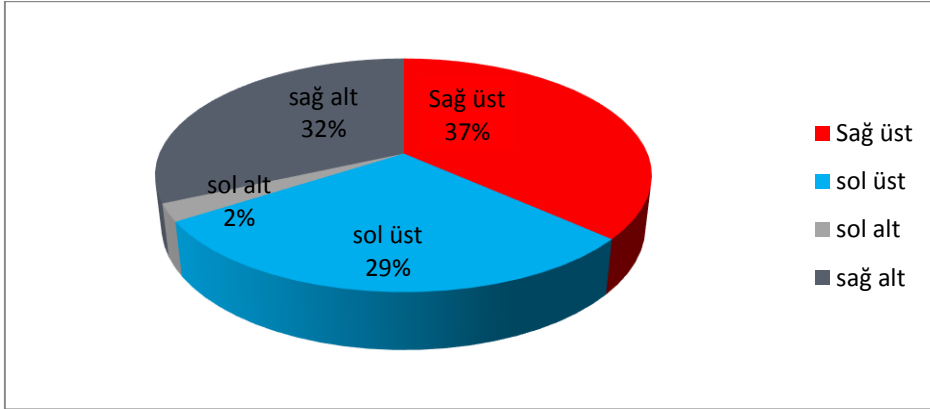
**Şekil 52.** Gruplara göre hasta sayısı dağılımı

MMP+YDR ve yalnız YDR uygulanan gruplarda hastaların cinsiyete göre dağılımı istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Hastaların % 64'ü kadın, % 36'sı erkektir. Hastaların cinsiyete göre dağılımı Şekil-53'de gösterilmiştir.



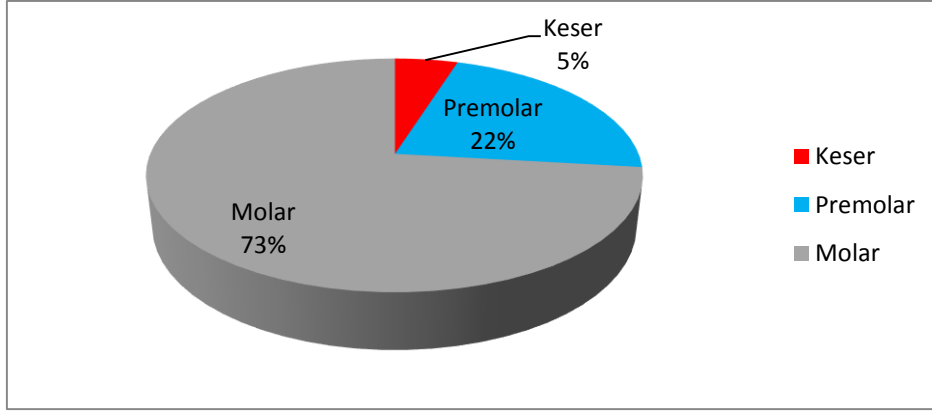
**Şekil 53.** Hastaların cinsiyete göre dağılımı

Hastalarda bulunan defekterin çene ve kadrana göre dağılımı istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Defektlerin % 37'si sağ üst, % 29'u sol üst, % 2'si sol alt ve % 32'si sağ alt çenede bulunmaktadır. Defektlerin çene ve kadrana göre dağılımı Şekil-54'de gösterilmiştir.



**Şekil 54.** Defektlerin çene ve kadrana göre dağılımı

Hastalarda bulunan defekterin diş tipine göre dağılımı istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Defektlerin % 73'ü molar dişlerde, % 22'si premolar dişlerde ve % 5'i keser dişlerde bulunmaktadır. Defektlerin diş tipine göre dağılımı Şekil-55'de gösterilmiştir.



**Şekil 55.** Defektlerin diş tipine göre dağılımı

## 4.2. Klinik ve Radyografik Parametrelerin Değerlendirilmesi

### 4.2.1. Grup içi değerlendirme

Cerrahi tedavi öncesinde çalışmaya katılan tüm bireylerin tüm ağız plak skorlarının % 15'in altında olması sağlanmıştır. MMP+YDR uygulanan grupta tedavi öncesi ve tedavi sonrasında PI, GI ve DOKI'nin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-5'de gösterilmiştir.

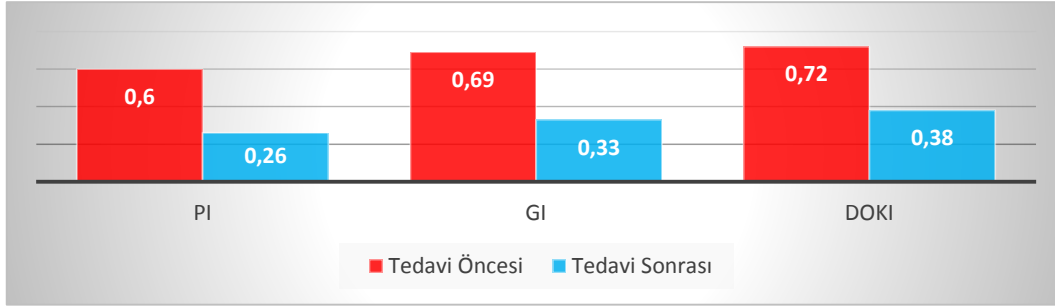
**Tablo 5.** Tedavi öncesi ve sonrasında MMP+YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri (PI= Plak indeksi; GI= Gingival indeks; DOKI= Dişeti oluğu kanama indeksi; Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

| MMP+YDR | Tedavi Öncesi<br>(Ort±Ss) | Tedavi Sonrası<br>(Ort±Ss) | p         |
|---------|---------------------------|----------------------------|-----------|
| PI      | 0,60±0,09                 | 0,26±0,12                  | 0,0001*** |
| GI      | 0,69±0,08                 | 0,33±0,08                  | 0,0001*** |
| DOKI    | 0,72±0,06                 | 0,38±0,06                  | 0,0001*** |

\*\*\* p<0.001

MMP+YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel analiz sonrası MMP+YDR uygulanan grupta ortalama PI değeri tedavi öncesi 0,60±0,09 ve tedavi sonrası 0,26±0,12 ise olarak

kaydedilmiştir. GI değeri tedavi öncesi  $0,69 \pm 0,08$  ve tedavi sonrası ise  $0,33 \pm 0,08$  olarak kaydedilmiştir. DOKI değeri tedavi öncesi  $0,72 \pm 0,06$  ve tedavi sonrası ise  $0,38 \pm 0,06$  olarak kaydedilmiştir. MMP+YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri dercede anlamlı azalmıştır ( $p < 0,001$ ). MMP+YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI değerlerinin karşılaştırılması Şekil-56’da gösterilmiştir.



**Şekil 56.** MMP+YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI değerlerinin karşılaştırılması

YDR uygulanan grupta tedavi öncesinde ve tedavi sonrasında PI, GI ve DOKI’nin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-6’da gösterilmiştir.

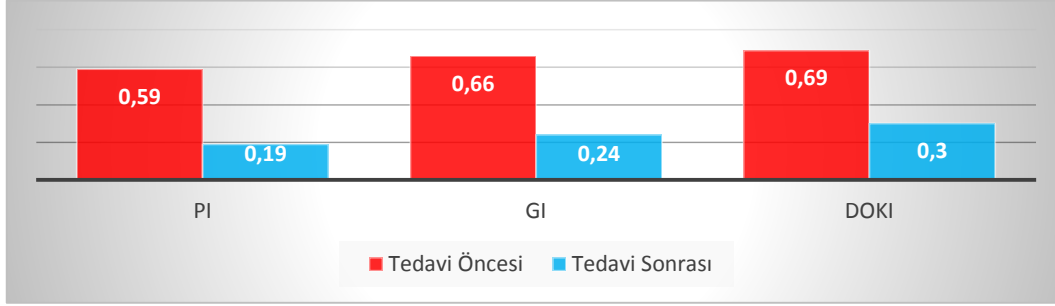
**Tablo 6.** Tedavi öncesi ve sonrasında YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri (PI= Plak indeksi; GI= Gingival indeks; DOKI= Dişeti oluğu kanama indeksi; Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

| YDR  | Tedavi Öncesi<br>(Ort±Ss) | Tedavi Sonrası<br>(Ort±Ss) | p         |
|------|---------------------------|----------------------------|-----------|
| PI   | 0,59±0,77                 | 0,19±0,09                  | 0,0001*** |
| GI   | 0,66±0,09                 | 0,24±0,11                  | 0,0001*** |
| DOKI | 0,69±0,05                 | 0,30±0,05                  | 0,0001*** |

\*\*\*  $p < 0,001$

YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel analiz sonrası YDR uygulanan grupta ortalama PI değeri tedavi öncesi  $0,59 \pm 0,77$  ve tedavi sonrası ise  $0,19 \pm 0,09$  olarak kaydedilmiştir. GI değeri tedavi öncesi  $0,66 \pm 0,09$  ve tedavi sonrası ise  $0,24 \pm 0,11$  olarak kaydedilmiştir.

DOKI değeri tedavi öncesi  $0,69\pm0,05$  ve tedavi sonrası ise  $0,30\pm0,05$  olarak kaydedilmiştir. YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri derecede anlamlı azalmıştır ( $p<0,001$ ). YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI değerlerinin karşılaştırılması şekil-57’de gösterilmiştir.



**Şekil 57.** YDR uygulanan grupta PI, GI ve DOKI değerlerinin karşılaştırılması

MMP+YDR uygulanan grupta tedavi öncesi ve tedavi sonrasında SCD, DÇM ve KAS’ın ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-7’de gösterilmiştir.

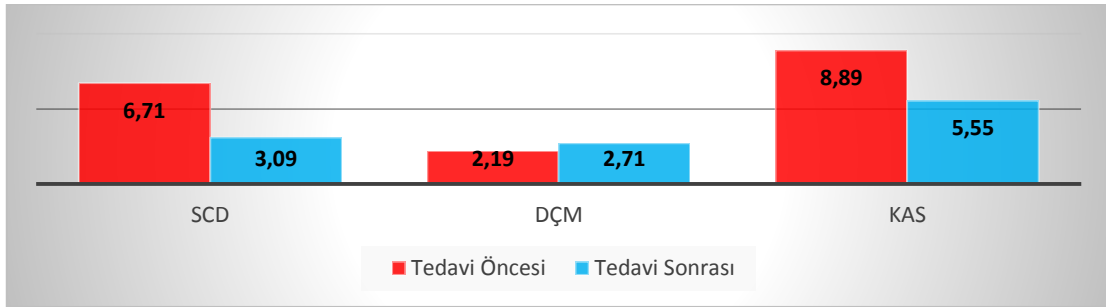
**Tablo 7.** Tedavi öncesi ve sonrasında MMP+YDR uygulanan grupta SCD, DÇM ve KAS değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri (SCD= Sondlanan cep derinliği; DÇM= Dişeti çekilme miktarı; KAS= Klinik ataşman seviyesi; Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma )

| MMP+YDR  | Tedavi Öncesi<br>(Ort±Ss) | Tedavi Sonrası<br>(Ort±Ss) | p         |
|----------|---------------------------|----------------------------|-----------|
| SCD(mm)  | 6,71±0,78                 | 3,09±0,62                  | 0,07      |
| DÇM (mm) | 2,19±0,60                 | 2,71±0,73                  | 0,0001*** |
| KAS (mm) | 8,89±0,94                 | 5,55±1,04                  | 0,01*     |

\*  $p<0,05$ , \*\*\*  $p<0,001$

MMP+YDR uygulanan grupta SCD, DÇM ve KAS değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel analiz sonrası MMP+YDR uygulanan grupta ortalama SCD değeri tedavi öncesi  $6,71\pm0,78$  ve tedavi sonrası ise  $3,09\pm0,62$  olarak kaydedilmiştir. DÇM değeri tedavi öncesi  $2,19\pm0,60$  ve tedavi sonrası ise

2,71±0,73 olarak kaydedilmiştir. KAS değeri tedavi öncesi 8,89±0,94 ve tedavi sonrası ise 5,55±1,04 olarak kaydedilmiştir. MMP+YDR uygulanan grupta SCD değerinde tedavi sonrası tedavi öncesine göre oluşan azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). DÇM değeri tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri dercede anlamlı artmıştır ( $p<0,001$ ). KAS değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre anlamlı derecede azalmıştır ( $p<0,05$ ). MMP+YDR uygulanan grupta SCD, DÇM ve KAS değerlerinin karşılaştırılması Şekil-58’de gösterilmiştir.



**Şekil 58.** MMP+YDR uygulanan grupta SCD, DÇM ve KAS değerlerinin karşılaştırılması

YDR uygulanan grupta tedavi öncesinde ve tedavi sonrasında SCD, DÇM ve KAS’ın ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-8’de gösterilmiştir.

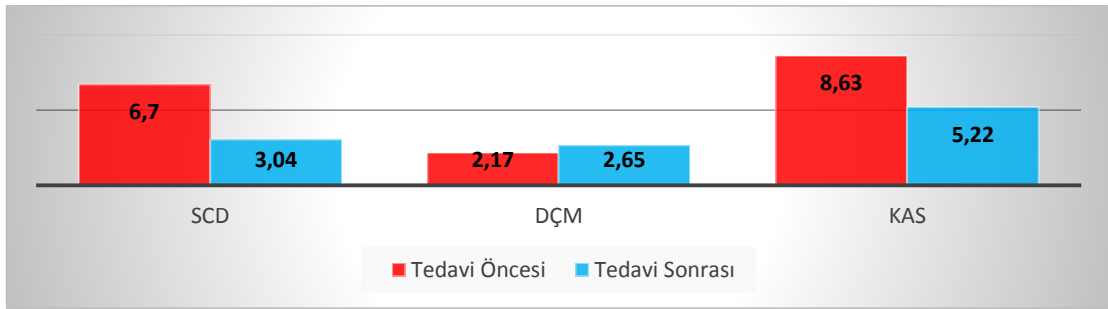
**Tablo 8.** Tedavi öncesi ve sonrasında YDR uygulanan grupta SCD, DÇM ve KAS değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri (SCD= Sondlanan cep derinliği; DÇM= Dişeti çekilme miktarı; KAS= Klinik ataşman seviyesi; Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma )

| YDR      | Tedavi Öncesi<br>(Ort±Ss) | Tedavi Sonrası<br>(Ort±Ss) | p         |
|----------|---------------------------|----------------------------|-----------|
| SCD (mm) | 6,70±0,90                 | 3,04±0,68                  | 0,01*     |
| DÇM (mm) | 2,17±0,24                 | 2,65±0,58                  | 0,0001*** |
| KAS (mm) | 8,63±1,32                 | 5,22±0,84                  | 0,02*     |

\*  $p<0,05$ , \*\*\*  $p<0,001$

YDR uygulanan grupta SCD, DÇM ve KAS değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel analiz sonrası YDR uygulanan grupta ortalama

SCD değeri tedavi öncesi  $6,70 \pm 0,90$  ve tedavi sonrası ise  $3,04 \pm 0,68$  olarak kaydedilmiştir. DÇM değeri tedavi öncesi  $2,17 \pm 0,24$  ve tedavi sonrası ise  $2,65 \pm 0,58$  olarak kaydedilmiştir. KAS değeri tedavi öncesi  $8,63 \pm 1,32$  ve tedavi sonrası ise  $5,22 \pm 0,84$  olarak kaydedilmiştir. YDR uygulanan grupta SCD ve KAS değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre anlamlı derecede azalmıştır ( $p < 0,05$ ). DÇM değeri ise tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri derecede anlamlı artmıştır ( $p < 0,001$ ). YDR uygulanan grupta SCD, DÇM, KAS değerlerinin karşılaştırılması Şekil-59'da gösterilmiştir.



**Şekil 59.** YDR uygulanan grupta SCD, DÇM, KAS değerlerinin karşılaştırılması

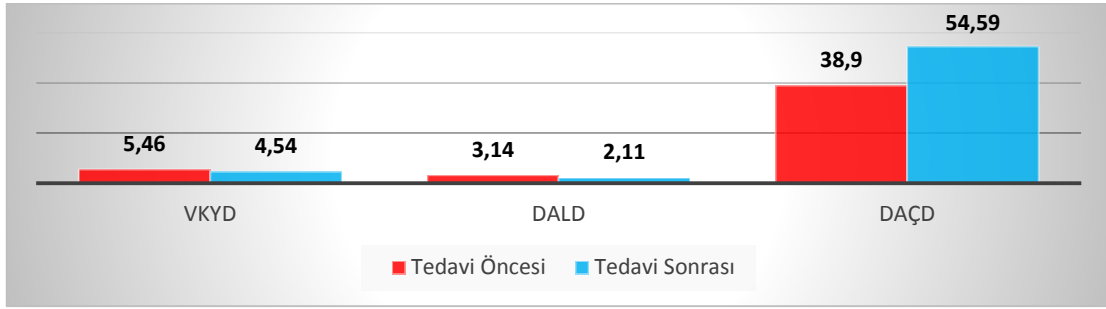
MMP+YDR uygulanan grupta tedavi öncesi ve tedavi sonrasında VKYD, DALD, DAÇD ve KYD'nin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-9'da gösterilmiştir.

**Tablo 9.** Tedavi öncesi ve sonrasında MMP+YDR uygulanan grupta VKYD, DALD, DAÇD ve KYD değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri (VKYD= Vertikal kemik yüksekliği değişimi; DALD= Defekt alan değişimi; DAÇD= Defekt açısı değişimi; KYD= kemik yoğunluk değişimi; Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

| MMP+YDR   | Tedavi Öncesi<br>(Ort±Ss) | Tedavi Sonrası<br>(Ort±Ss) | p         |
|-----------|---------------------------|----------------------------|-----------|
| VKYD (mm) | 5,46±1,22                 | 4,54±1,31                  | 0,0001*** |
| DALD (mm) | 3,14±0,94                 | 2,11±0,83                  | 0,0001*** |
| DAÇD (°)  | 38,90±11,32               | 54,59±12,86                | 0,002*    |
| KYD       | 340,77±152,74             | 391,04±151,07              | 0,0001*** |

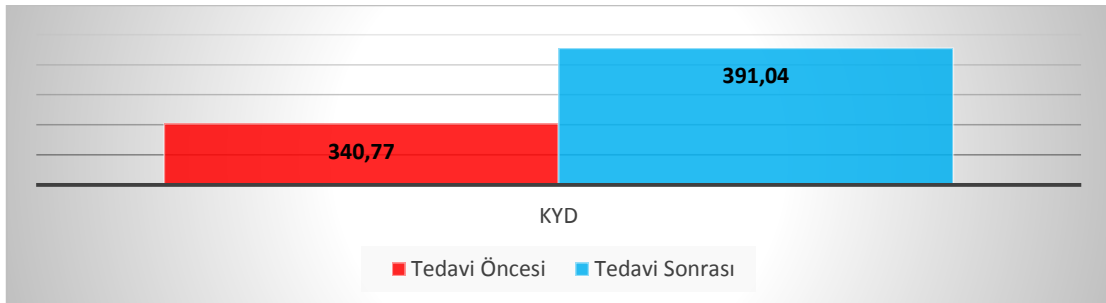
\*  $p < 0,05$ , \*\*\*  $p < 0,001$

MMP+YDR uygulanan grupta VKYD, DALD, DAÇD ve KYD değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel analiz sonrası MMP+YDR uygulanan grupta ortalama VKYD değeri tedavi öncesi  $5,46 \pm 1,22$  ve tedavi sonrası ise  $4,54 \pm 1,31$  olarak kaydedilmiştir. DALD değeri tedavi öncesi  $3,14 \pm 0,94$  ve tedavi sonrası ise  $2,11 \pm 0,83$  olarak kaydedilmiştir. DAÇD değeri tedavi öncesi  $38,90 \pm 11,32$  ve tedavi sonrası ise  $54,59 \pm 12,86$  olarak kaydedilmiştir. KYD değeri tedavi öncesi  $340,77 \pm 152,74$  ve tedavi sonrası ise  $391,04 \pm 151,07$  olarak kaydedilmiştir. MMP+YDR uygulanan grupta VKYD, DALD değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri derecede anlamlı azalmıştır ( $p < 0,001$ ). DAÇD değeri tedavi sonrası tedavi öncesine göre anlamlı derecede azalmıştır ( $p < 0,05$ ). KYD değeri tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri derecede anlamlı artmıştır ( $p < 0,001$ ). MMP+YDR uygulanan grupta VKYD, DALD ve DAÇD değerlerinin karşılaştırılması Şekil-60’da gösterilmiştir.



**Şekil 60.** MMP+YDR uygulanan grupta VKYD, DALD ve DAÇD değerlerinin karşılaştırılması

MMP+YDR uygulanan grupta KYD değerinin karşılaştırılması Şekil-61’de gösterilmiştir.



**Şekil 61.** MMP+YDR uygulanan grupta KYD değerinin karşılaştırılması

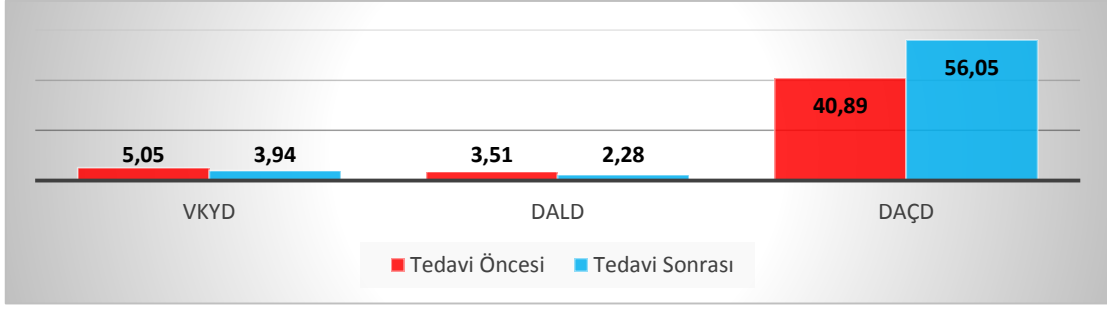
YDR uygulanan grupta tedavi öncesinde ve tedavi sonrasında VKYD, DALD, DAÇD ve KYD'nin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-10'da gösterilmiştir.

**Tablo 10.** Tedavi öncesi ve sonrasında YDR uygulanan grupta VKYD, DALD, DAÇD ve KYD değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri (VKYD= Vertikal kemik yüksekliği değişimi; DALD= Defekt alan değişimi; DAÇD= Defekt açısı değişimi; KYD= kemik yoğunluk değişimi; Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

| YDR       | Tedavi Öncesi<br>(Ort±Ss) | Tedavi Sonrası<br>(Ort±Ss) | p         |
|-----------|---------------------------|----------------------------|-----------|
| VKYD (mm) | 5,05±2,00                 | 3,94±1,79                  | 0,0001*** |
| DALD (mm) | 3,51±1,22                 | 2,28±0,82                  | 0,0001*** |
| DAÇD (°)  | 40,89±13,83               | 56,05±10,97                | 0,002*    |
| KYD       | 445,42±232,56             | 446,36±189,69              | 0,0001*** |

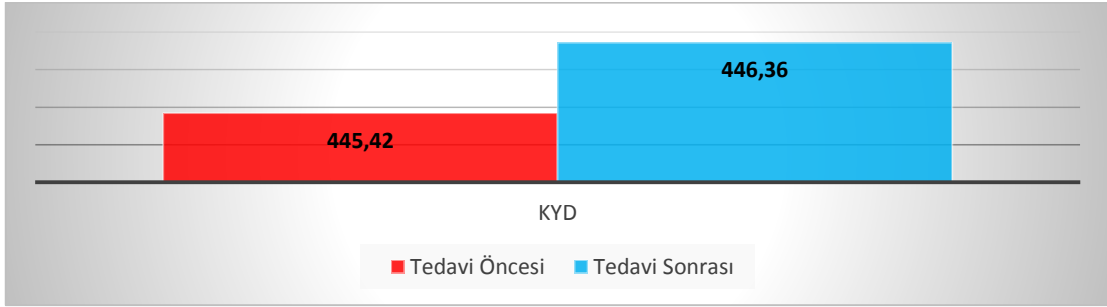
\* p<0.05, \*\*\* p<0.001

YDR uygulanan grupta VKYD, DALD, DAÇD ve KYD değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel analiz sonrası YDR uygulanan grupta ortalama VKYD değeri tedavi öncesi 5,05±2,00 ve tedavi sonrası ise 3,94±1,79 olarak kaydedilmiştir. DALD değeri tedavi öncesi 3,51±1,22 ve tedavi sonrası ise 2,28±0,82 olarak kaydedilmiştir. DAÇD değeri tedavi öncesi 40,89±13,83 ve tedavi sonrası ise 56,05±10,97 olarak kaydedilmiştir. KYD değeri tedavi öncesi 445,42±232,56 ve tedavi sonrası ise 446,368±189,69 olarak kaydedilmiştir. YDR uygulanan grupta VKYD, DALD değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri derecede anlamlı azalmıştır (p<0,001). DAÇD değeri tedavi sonrası tedavi öncesine göre anlamlı derecede artmıştır (p<0,05). KYD değeri tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri derecede anlamlı azalmıştır (p<0,001). YDR uygulanan grupta VKYD, DALD ve DAÇD değerlerinin karşılaştırılması Şekil-62'de gösterilmiştir.



**Şekil 62.** YDR uygulanan grupta VKYD, DALD ve DAÇD değerlerinin karşılaştırılması

YDR uygulanan grupta KYD değerinin karşılaştırılması Şekil 63’de gösterilmiştir.



**Şekil 63.** YDR uygulanan grupta KYD değerinin karşılaştırılması

#### 4.2.2. Gruplar arası değerlendirme

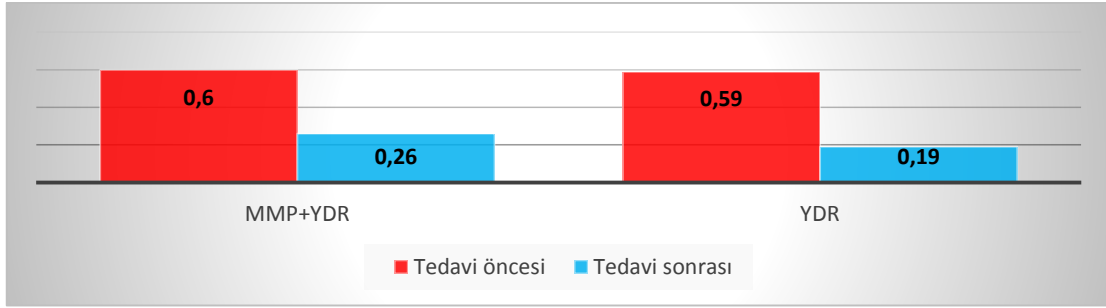
MMP+YDR ve YDR uygulanan gruplarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası PI, GI ve DOKI değerlerindeki değişim Tablo-11’de gösterilmiştir.

**Tablo 11.** Tedavi öncesi ve sonrasında MMP+YDR ve YDR uygulanan gruplarda PI, GI ve DOKI değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri (PI= Plak indeksi; GI= Gingival indeks; DOKI= Dişeti oluğu kanama indeksi; Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

|             |                       | <b>MMP+YDR<br/>(Ort±Ss)</b> | <b>YDR<br/>(Ort±Ss)</b> | <b>p</b>  |
|-------------|-----------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------|
| <b>PI</b>   | <b>Tedavi öncesi</b>  | 0,60±0,09                   | 0,59±0,77               | 0,954     |
|             | <b>Tedavi sonrası</b> | 0,26±0,12                   | 0,19±0,09               | 0,04*     |
| <b>GI</b>   | <b>Tedavi öncesi</b>  | 0,69±0,08                   | 0,66±0,09               | 0,269     |
|             | <b>Tedavi sonrası</b> | 0,33±0,08                   | 0,24±0,11               | 0,012*    |
| <b>DOKI</b> | <b>Tedavi öncesi</b>  | 0,72±0,06                   | 0,69±0,05               | 0,159     |
|             | <b>Tedavi sonrası</b> | 0,38±0,06                   | 0,30±0,05               | 0,0001*** |

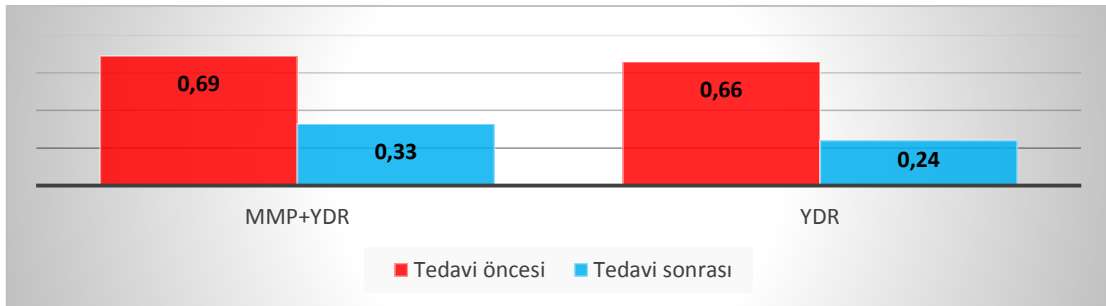
\* p<0.05, \*\*\* p<0.001

PI değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel olarak analiz edilen bu verilerin ışığında tedavi öncesinde MMP+YDR uygulanan grupta ortalama PI değeri 0,60±0,09; YDR uygulanan grupta 0,59±0,77 olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi öncesi PI değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir (p>0.05). Tedavi sonrasında ise MMP+YDR uygulanan grupta ortalama PI değeri 0,26±0,12; YDR uygulanan grupta 0,19±0,09 olarak kaydedilmiştir (p>0,05). Gruplar karşılaştırıldığında tedavi sonrası PI değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). MMP+YDR ile YDR uygulanan gruplarda PI değerlerinin karşılaştırılması Şekil-64’de gösterilmiştir.



**Şekil 64.** PI değerlerinin karşılaştırılması

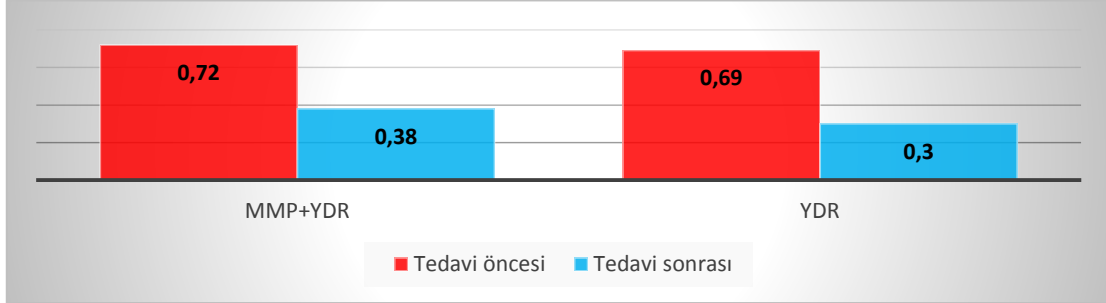
GI değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel olarak analiz sonrası tedavi öncesinde MMP+YDR uygulanan grupta ortalama GI değeri  $0,69 \pm 0,08$ ; YDR uygulanan grupta  $0,66 \pm 0,09$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi öncesi GI değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p > 0,05$ ) Tedavi sonrasında ise MMP+YDR uygulanan grupta ortalama GI değeri  $0,33 \pm 0,08$ ; YDR uygulanan grupta  $0,24 \pm 0,11$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi sonrası GI değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). MMP+YDR ile YDR uygulanan gruplarda GI değerlerinin karşılaştırılması Şekil-65’de gösterilmiştir.



**Şekil 65.** GI değerlerinin karşılaştırılması

DOKI değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel olarak analiz edilen bu verilerin ışığında tedavi öncesinde MMP+YDR uygulanan grupta ortalama DOKI değeri  $0,72 \pm 0,06$ ; YDR uygulanan grupta  $0,69 \pm 0,05$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi öncesi DOKI değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p > 0,05$ ) Tedavi sonrasında ise MMP+YDR uygulanan grupta ortalama DOKI değeri  $0,38 \pm 0,06$ ; YDR uygulanan grupta  $0,30 \pm 0,05$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi sonrası

DOKI değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). MMP+YDR ile YDR uygulanan gruplarda DOKI değerlerinin karşılaştırılması Şekil-66'da gösterilmiştir.



**Şekil 66.** DOKI değerlerinin karşılaştırılması

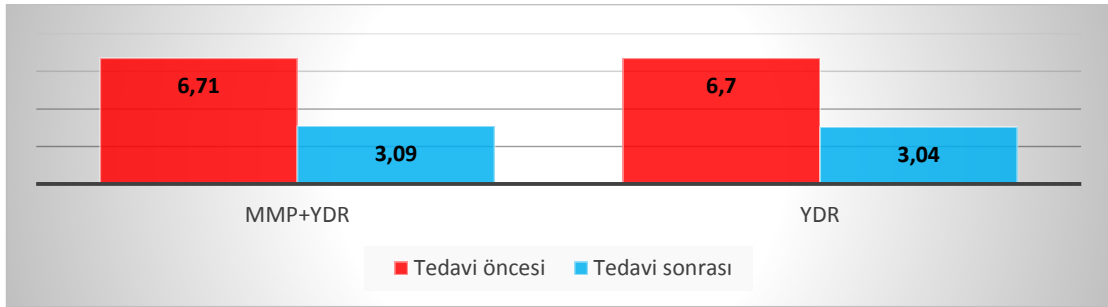
MMP+YDR ve YDR uygulanan gruplarda tedavi öncesinde ve tedavi sonrasında marjinal doku değişimleri SCD, DÇM ve KAS ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-12'de gösterilmiştir.

**Tablo 12.** Tedavi öncesi ve sonrasında MMP+YDR ve yalnız YDR uygulanan gruplarda marjinal periodontal doku değişimi SCD, DÇM ve KAS'ın ortalama ve standart sapma değerleri (SCD= Sondlanan cep derinliği; DÇM= Dişeti çekilme miktarı; KAS= Klinik ataşman seviyesi; Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

|                 |                       | <b>MMP+YDR<br/>(Ort±Ss)</b> | <b>YDR<br/>(Ort±Ss)</b> | <b>p</b> |
|-----------------|-----------------------|-----------------------------|-------------------------|----------|
| <b>SCD (mm)</b> | <b>Tedavi öncesi</b>  | 6,71±0,78                   | 6,70±0,90               | 0,70     |
|                 | <b>Tedavi sonrası</b> | 3,09±0,62                   | 3,04±0,68               | 0,51     |
| <b>DÇM (mm)</b> | <b>Tedavi öncesi</b>  | 2,19±0,60                   | 2,17±0,24               | 0,214    |
|                 | <b>Tedavi sonrası</b> | 2,71±0,73                   | 2,65±0,58               | 0,143    |
| <b>KAS (mm)</b> | <b>Tedavi öncesi</b>  | 8,89±0,94                   | 8,63±1,32               | 0,190    |
|                 | <b>Tedavi sonrası</b> | 5,55±1,04                   | 5,22±0,84               | 0,180    |

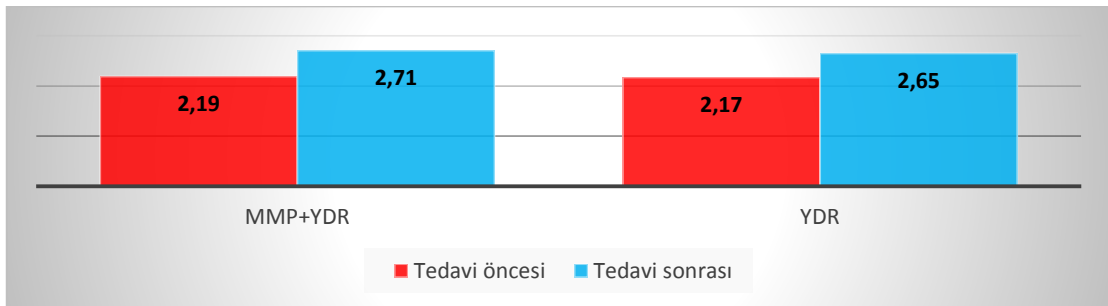
SCD değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel analiz sonrası tedavi öncesinde MMP+YDR uygulanan grupta ortalama SCD değeri

6,71±0,78; YDR uygulanan grupta 6,70±0,90 olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi öncesi SCD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ). Tedavi sonrasında ise MMP+YDR uygulanan grupta ortalama SCD değeri 3,09±0,62; YDR uygulanan grupta 3,04±0,68 olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi sonrası SCD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ). MMP+YDR ile YDR uygulanan gruplarda SCD değerlerinin karşılaştırılması Şekil-67’de gösterilmiştir.



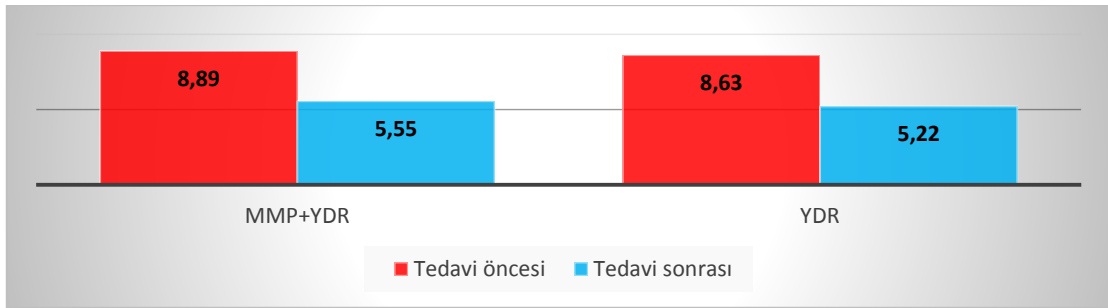
**Şekil 67.** SCD değerlerinin karşılaştırılması

DÇM değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel analiz sonrası tedavi öncesinde MMP+YDR uygulanan grupta ortalama DÇM değeri 2,19±0,60; YDR uygulanan grupta 2,17±0,24 olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi öncesi DÇM değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ). Tedavi sonrasında ise MMP+YDR uygulanan grupta ortalama DÇM değeri 2,71±0,73; YDR uygulanan grupta 2,65±0,58 olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi sonrası DÇM değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ). MMP+YDR ile YDR uygulanan gruplarda DÇM değerlerinin karşılaştırılması Şekil-68’de gösterilmiştir.



**Şekil 68.** DÇM değerlerinin karşılaştırılması

KAS değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda llmstr. İstatistiksel olarak analiz edilen bu verilerin ışığında tedavi öncesinde MMP+YDR uygulanan grupta ortalama KAS değeri  $8,89\pm0,94$ ; YDR uygulanan grupta  $8,63\pm1,32$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi ncesi KAS değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ). Tedavi sonrasında ise MMP+YDR uygulanan grupta ortalama KAS değeri  $5,55\pm1,04$ ; YDR uygulanan grupta  $5,22\pm0,84$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi sonrası KAS değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ). MMP+YDR ile YDR uygulanan gruplarda KAS değerlerinin karşılaştırılması şekil-69’da gösterilmiştir.



**şekil 69.** KAS değerlerinin karşılaştırılması

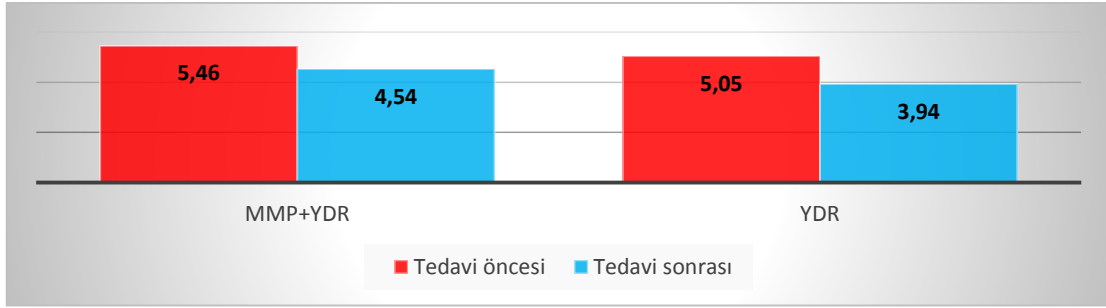
MMP+YDR ve yalnız YDR uygulanan gruplarda tedavi öncesinde ve tedavi sonrasında periodontal kemik defektleri değişim değerleri VKYD, DALD, DAD ve KYD’nin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-13’de gösterilmiştir.

**Tablo 13.** Tedavi öncesi ve sonrasında MMP+YDR ve yalnız YDR uygulanan gruplarda periodontal kemik defekti değişim değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri (VKYD= Vertikal kemik yüksekliği değişimi; DALD= Defekt alan değişimi; DAÇD= Defekt açısı değişimi; KYD= kemik yoğunluk değişimi; Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

|                                  |                       | <b>MMP+YDR<br/>(Ort±Ss)</b> | <b>YDR<br/>(Ort±Ss)</b> | <b>p</b> |
|----------------------------------|-----------------------|-----------------------------|-------------------------|----------|
| <b>VKYD<br/>(mm)</b>             | <b>Tedavi öncesi</b>  | 5,46±1,22                   | 5,05±2,00               | 0,016*   |
|                                  | <b>Tedavi sonrası</b> | 4,54±1,31                   | 3,94±1,79               | 0,155    |
| <b>DALD<br/>(mm<sup>2</sup>)</b> | <b>Tedavi öncesi</b>  | 3,14±0,94                   | 3,51±1,22               | 0,141    |
|                                  | <b>Tedavi sonrası</b> | 2,11±0,83                   | 2,28±0,82               | 0,639    |
| <b>DAÇD<br/>(°)</b>              | <b>Tedavi öncesi</b>  | 38,90±11,32                 | 40,89±13,83             | 0,617    |
|                                  | <b>Tedavi sonrası</b> | 54,59±12,86                 | 56,05±10,97             | 0,504    |
| <b>KYD</b>                       | <b>Tedavi öncesi</b>  | 340,77±152,74               | 445,42±232,56           | 0,052    |
|                                  | <b>Tedavi sonrası</b> | 391,04±151,07               | 446,368±189,69          | 0,293    |

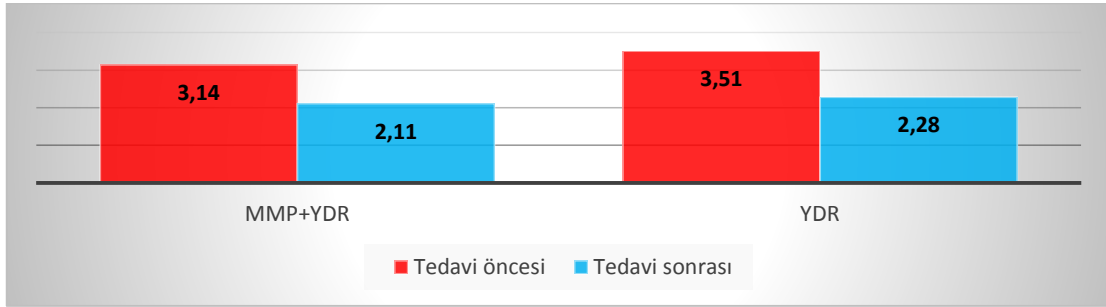
\* p<0.05

VKYD değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel olarak analiz edilen bu verilerin ışığında tedavi öncesinde MMP+YDR uygulanan grupta ortalama VKYD değeri 5,46±1,22; YDR uygulanan grupta 5,05±2,00 olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi öncesi VKYD değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Tedavi sonrasında ise MMP+YDR uygulanan grupta ortalama VKYD değeri 4,54±1,31; YDR uygulanan grupta 3,94±1,79 olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi sonrası VKYD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir (p>0,05). MMP+YDR ile YDR uygulanan gruplarda VKYD değerlerinin karşılaştırılması Şekil-70’de gösterilmiştir.



**Şekil 70.** VKYD değerlerinin karşılaştırılması

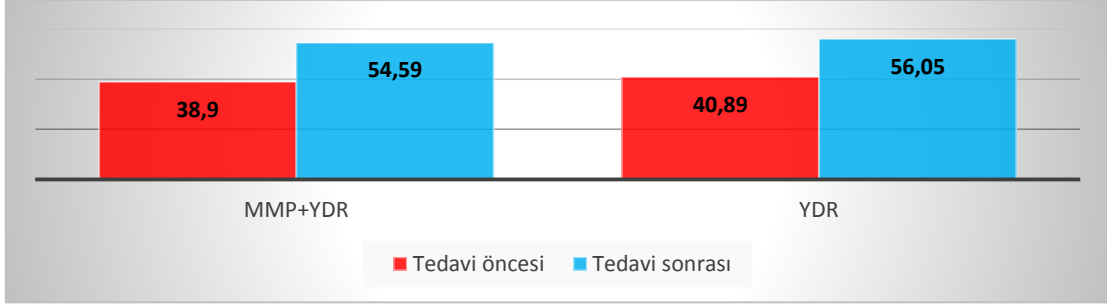
DALD değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel olarak analiz edilen bu verilerin ışığında tedavi öncesinde MMP+YDR uygulanan grupta ortalama DALD değeri  $3,14 \pm 0,94$ ; YDR uygulanan grupta  $3,51 \pm 1,22$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi öncesi DALD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p < 0,05$ ). Tedavi sonrasında ise MMP+YDR uygulanan grupta ortalama DALD değeri  $2,11 \pm 0,83$ ; YDR uygulanan grupta  $2,28 \pm 0,82$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi sonrası DALD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p > 0,05$ ). MMP+YDR ile YDR uygulanan gruplarda DALD değerlerinin karşılaştırılması Şekil-71’de gösterilmiştir.



**Şekil 71.** DALD değerlerinin karşılaştırılması

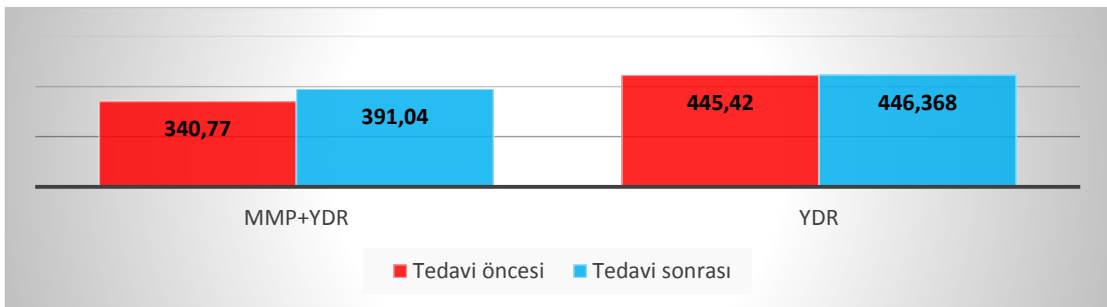
DAÇD değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel olarak analiz edilen bu verilerin ışığında tedavi öncesinde MMP+YDR uygulanan grupta ortalama DAÇD değeri  $38,90 \pm 11,32$ ; YDR uygulanan grupta  $40,89 \pm 13,83$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi öncesi DAÇD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p > 0,05$ ). Tedavi sonrasında ise MMP+YDR uygulanan grupta ortalama DAÇD değeri  $54,59 \pm 12,86$ ; YDR uygulanan

grupta  $56,05 \pm 10,97$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi sonrası DAÇD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p > 0,05$ ). MMP+YDR ile YDR uygulanan gruplarda DAÇD değerlerinin karşılaştırılması Şekil-72’de gösterilmiştir.



**Şekil 72.** DAÇD değerlerinin karşılaştırılması

KYD değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası 6. ayda ölçülmüştür. İstatistiksel olarak analiz edilen bu verilerin ışığında tedavi öncesinde MMP+YDR uygulanan grupta ortalama KYD değeri  $340,77 \pm 152,74$ ; YDR uygulanan grupta  $445,42 \pm 232,56$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi öncesi KYD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p > 0,05$ ). Tedavi sonrasında ise MMP+YDR uygulanan grupta ortalama KYD değeri  $391,04 \pm 151,07$ ; YDR uygulanan grupta  $446,368 \pm 189,69$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi sonrası KYD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p > 0,05$ ). MMP+YDR ile YDR uygulanan gruplarda KYD değerlerinin karşılaştırılması Şekil-73’de gösterilmiştir.



**Şekil 73.** KYD değerlerinin karşılaştırılması

#### **4.2.3. Klinik ve radyografik parametrelerin korelasyon analizi**

Çalışmamızda yer alan gruplardaki klinik marjinal periodontal doku değişim değerleri ile periodontal kemik defektleri değişim değerleri arasında Spearman Rho korelasyon analizi yapılmıştır. Periodontal doku değişim değerleri ile periodontal kemik defektleri arasında korelasyon analizi Tablo-14’de gösterilmiştir.

**Tablo 14.** Periodontal doku değişim değerleri ile periodontal kemik defekt değişim değerleri arasında korelasyon analizi

|             | <b>SCD</b>         | <b>DÇM</b> | <b>KAS</b> | <b>VKYD</b> | <b>DALD</b> | <b>DAÇD</b> | <b>KYD</b> |
|-------------|--------------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|------------|
| <b>SCD</b>  |                    |            |            |             |             |             |            |
| <b>DÇM</b>  | MMP+YDR<br>0,170   |            |            |             |             |             |            |
|             | YDR<br>0,130       |            |            |             |             |             |            |
| <b>KAS</b>  | MMP+YDR<br>0,791** | 0,203      |            |             |             |             |            |
|             | YDR<br>0,738**     | 0,421      |            |             |             |             |            |
| <b>VKYD</b> | MMP+YDR<br>0,193   | 0,022      | 0,190      |             |             |             |            |
|             | YDR<br>0,243       | 0,278      | 0,198      |             |             |             |            |
| <b>DALD</b> | MMP+YDR<br>0,49    | 0,125      | 0,192      | 0,240       |             |             |            |
|             | YDR<br>0,364       | 0,176      | 0,067      | 0,568       |             |             |            |
| <b>DAÇD</b> | MMP+YDR<br>0,185   | 0,99       | 0,043*     | 0,043       | 0,134       |             |            |
|             | YDR<br>0,208       | 0,184      | 0,076      | 0,263       | 0,450       |             |            |
| <b>KYD</b>  | MMP+YDR<br>0,008*  | 0,615      | 0,088      | 0,013       | 0,098       | 0,152       |            |
|             | YDR<br>0,031       | 0,286      | 0,132      | 0,044       | 0,123       | 0,415       |            |

Analiz sonuçlarına göre MMP+YDR ve YDR uygulanan gruplar arasında tedavi öncesi gözlenen farklarla tedavi sonrası gözlenen farklar arasında SCD ile KAS arasında, SCD ile KYD arasında ve KAS ile DAÇD arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır.

#### 4.3. *In vitro* Ortamda Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi

##### 4.3.1. PDLF hücre canlılığı ve proliferasyon test sonuçlarının değerlendirilmesi

Hücre canlılığı test sonuçları değerlendirilirken kontrol kuyucuklarında bulunan hücre sayısı 7000 olacak şekilde ayarlandı ve buna göre MMP bulunan kuyucuklardaki hücre sayısı hesaplandı. Hücre sayıları değerlendirilerek 7000 hücre sayısının proliferasyon oranı 100 olarak belirlendi ve diğer proliferasyon oranları buna göre hesaplandı.

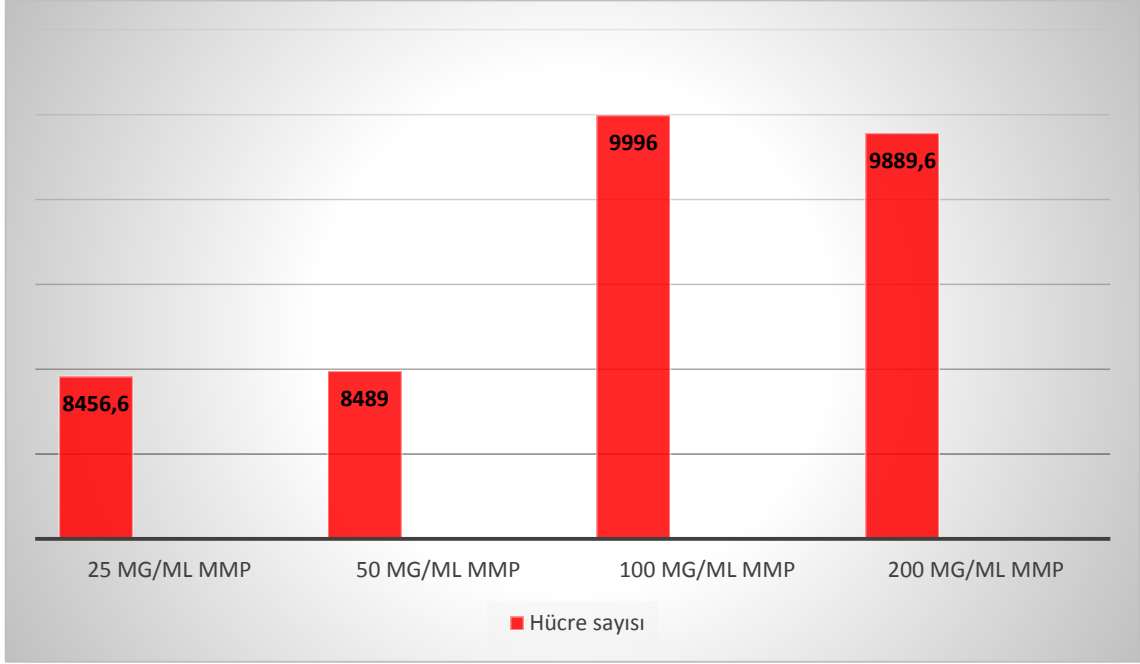
Hücre sayısı; dört gün boyunca, dört farklı MMP derişiminde ve 3 farklı dişte değerlendirilmiştir. Birinci gün hücre sayısının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-15’de gösterilmiştir.

**Tablo 15.** Birinci gün hücre sayısının ortalama ve standart sapma değerleri (Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

| Hücre Sayısı  | Birinci Diş  | İkinci Diş    | Üçüncü Diş     | p     |
|---------------|--------------|---------------|----------------|-------|
| 25 µg/ml MMP  | 8456,6±582,0 | 6067,0±2530,3 | 7878,6±624,0   | 0,202 |
| 50 µg/ml MMP  | 8489,0±598,0 | 8087,3±983,2  | 8204,3±495,4   | 0,051 |
| 100 µg/ml MMP | 9996,0±803,4 | 7962,3±504,5  | 10574,6±2771,0 | 0,148 |
| 200 µg/ml MMP | 9889,6±731,5 | 8270,0±720,9  | 7966,6±428,0   | 0,113 |

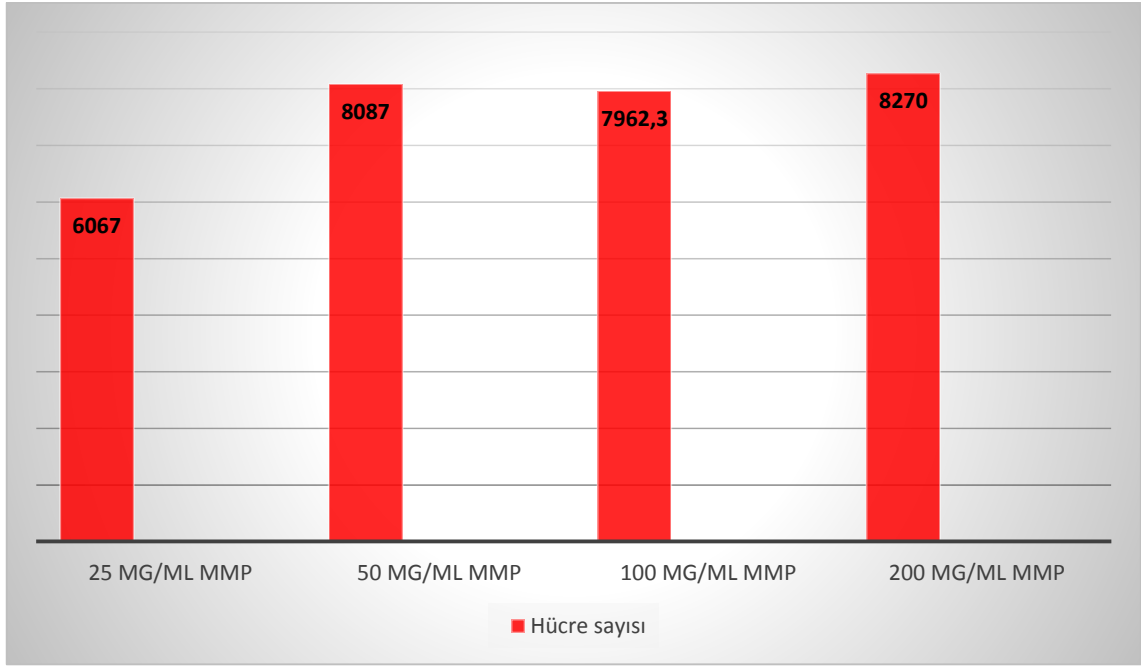
Birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Hücre sayıları; 25 µg/ml MMP derişiminde 8456,6±582,0; 50 µg/ml MMP derişiminde 8489,0±598,0; 100 µg/ml MMP derişiminde 9996,0±803,4 ve 200 µg/ml

MMP derişiminde  $9889,6 \pm 731,5$  olarak kaydedilmiştir. Birinci gün birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması Şekil-74’de gösterilmiştir.



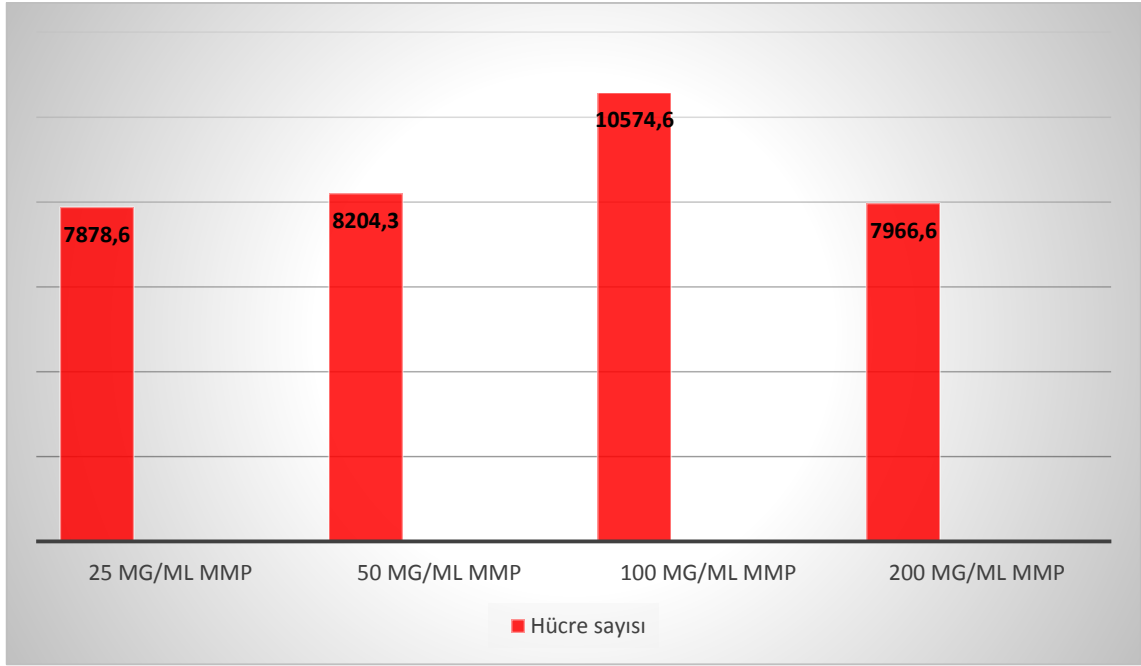
**Şekil 74.** Birinci gün birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması

İkinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Hücre sayıları; 25 µg/ml MMP derişiminde  $6067,0 \pm 2530,3$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $8087,3 \pm 983,2$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $7962,3 \pm 504,5$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $8270,0 \pm 720,9$  olarak kaydedilmiştir. Birinci gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması Şekil-75’de gösterilmiştir.



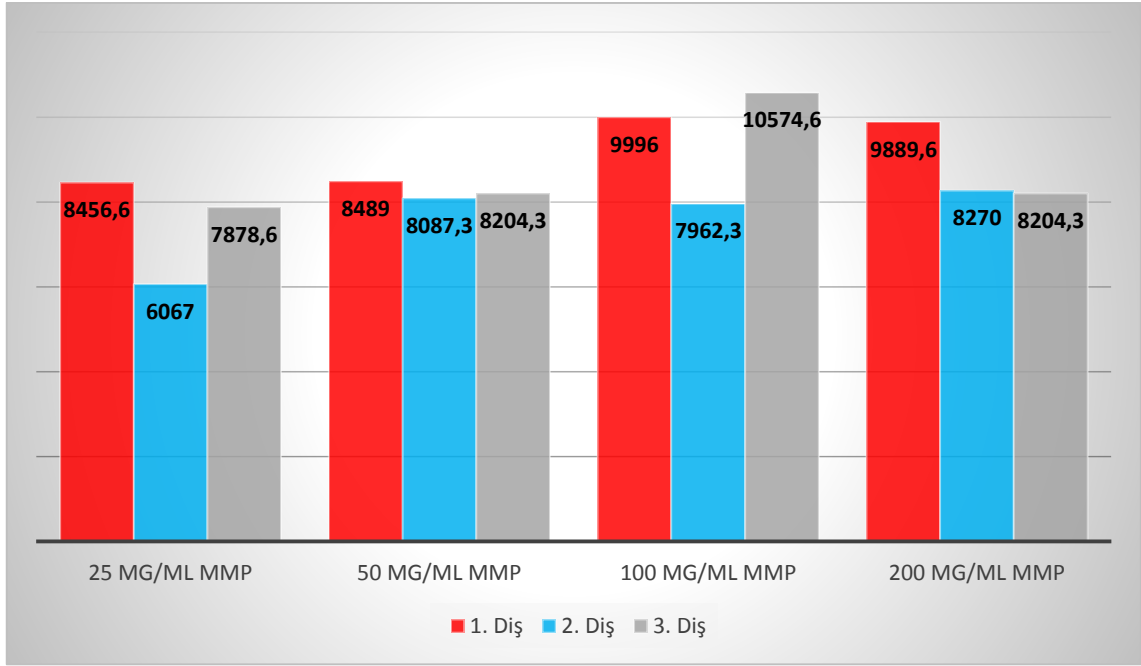
**Şekil 75.** Birinci gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması

Üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Hücre sayıları; 25 µg/ml MMP derişiminde  $7878,6 \pm 624,0$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $8204,3 \pm 495,4$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $10574,6 \pm 2771,0$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $7966,6 \pm 428,0$  olarak kaydedilmiştir. Birinci gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması Şekil-76’da gösterilmiştir.



**Şekil 76.** Birinci gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması

Birinci gün üç farklı dişte 4 farklı MMP derişiminde elde edilen hücre sayıları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Birinci dişte hücre sayıları 25 µg/ml MMP derişiminde  $8456,6 \pm 582,0$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $8489,0 \pm 598,0$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $9996,0 \pm 803,4$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $9889,6 \pm 731,5$  olarak kaydedilmiştir. İkinci dişte hücre sayıları 25 µg/ml MMP derişiminde  $6067,0 \pm 2530,3$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $8087,3 \pm 983,2$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $7962,3 \pm 504,5$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $8270,0 \pm 720,9$  olarak kaydedilmiştir. Üçüncü dişte hücre sayıları 25 µg/ml MMP derişiminde  $7878,6 \pm 624,0$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $8204,3 \pm 495,4$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $10574,6 \pm 2771,0$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $7966,6 \pm 428,0$  olarak kaydedilmiştir. Birinci gün dört farklı MMP derişiminde, üç dişte elde edilen hücre sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Birinci gün dört farklı MMP derişiminde üç dişte elde edilen hücre sayıları Şekil-77’de karşılaştırılmıştır.



**Şekil 77.** Birinci gün dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre sayılarının karşılaştırılması

Hücre proliferasyon yüzdesi; dört gün boyunca, dört farklı MMP derişiminde ve 3 farklı dişte değeriendirilmiştir. Birinci gün elde edilen proliferasyon yüzdesinin ortalama ve standart sapma değeri Tablo-16’da gösterilmiştir.

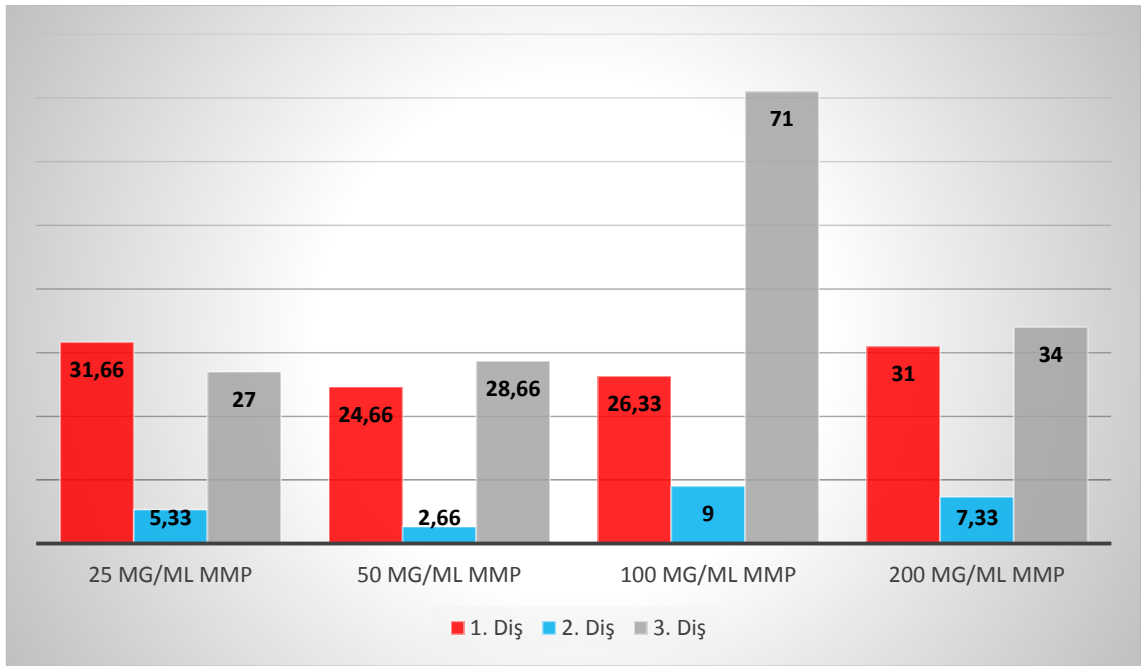
**Tablo 16.** Birinci gün elde edilen proliferasyon yüzdesinin ortalama ve standart sapma değeri (Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

| Proliferasyon yüzdesi | Birinci Diş (Ort±Ss) | İkinci Diş (Ort±Ss) | Üçüncü Diş (Ort±Ss) | p      |
|-----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|--------|
| 25 µg/ml MMP          | 31,66±6,48           | 5,33±2,96           | 27,00±3,78          | 0,061  |
| 50 µg/ml MMP          | 24,66±3,84           | 2,66±1,33           | 28,66±5,81          | 0,050* |
| 100 µg/ml MMP         | 26,33±7,35           | 9,00±7,09           | 71,00±31,43         | 0,148  |
| 200 µg/ml MMP         | 31,00±11,93          | 7,33±6,35           | 34,00±7,21          | 0,113  |

\* p<0.05

Birinci gün üç farklı dişten 4 farklı MMP derişiminde elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi istatistiksel olarak değeriendirilmiştir. Birinci dişte hücre proliferasyon yüzdesi; 25 µg/ml MMP derişiminde 31,66±6,48; 50 µg/ml MMP derişiminde 24,66±3,84; 100 µg/ml MMP derişiminde 26,33±7,35 ve 200 µg/ml MMP

derişiminde  $31,00 \pm 11,93$  olarak kaydedilmiştir. İkinci dişte hücre proliferasyon yüzdesi; 25  $\mu\text{g/ml}$  MMP derişiminde  $5,33 \pm 2,96$ ; 50  $\mu\text{g/ml}$  MMP derişiminde  $2,66 \pm 1,33$ ; 100  $\mu\text{g/ml}$  MMP derişiminde  $9,00 \pm 7,09$  ve 200  $\mu\text{g/ml}$  MMP derişiminde  $7,33 \pm 6,35$  olarak kaydedilmiştir. Üçüncü dişte hücre proliferasyon yüzdesi; 25  $\mu\text{g/ml}$  MMP derişiminde  $27,00 \pm 3,78$ ; 50  $\mu\text{g/ml}$  MMP derişiminde  $28,66 \pm 5,81$ ; 100  $\mu\text{g/ml}$  MMP derişiminde  $71,00 \pm 31,43$  ve 200  $\mu\text{g/ml}$  MMP derişiminde  $34,00 \pm 7,21$  olarak kaydedilmiştir. Birinci gün 25  $\mu\text{g/ml}$  MMP derişiminde üç diştten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Birinci gün 50  $\mu\text{g/ml}$  MMP derişiminde üç diştten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Birinci gün 100  $\mu\text{g/ml}$  ve 200  $\mu\text{g/ml}$  MMP derişimlerinde, üç diştten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Birinci gün dört farklı MMP derişiminde üç diştten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi Şekil-78’de karşılaştırılmıştır.



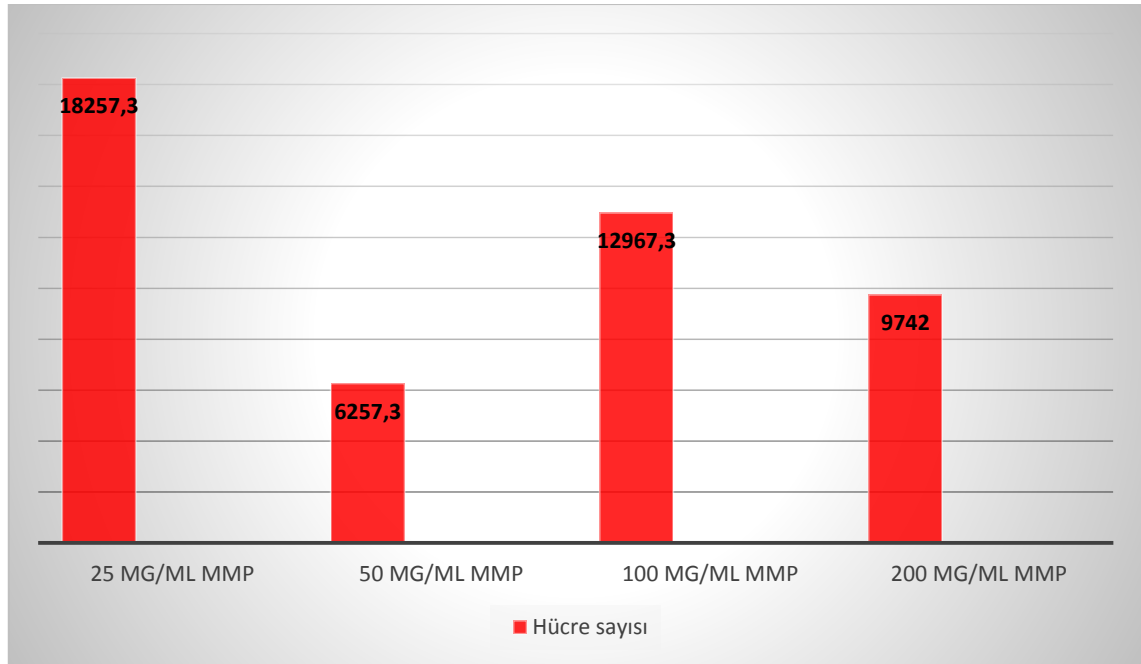
**Şekil 78.** Birinci gün dört farklı MMP derişiminde üç diştten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesinin karşılaştırılması

İkinci gün hücre sayısının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-17’de gösterilmiştir.

**Tablo 17.** İkinci gün hücre sayısının ortalama ve standart sapma değerleri (Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

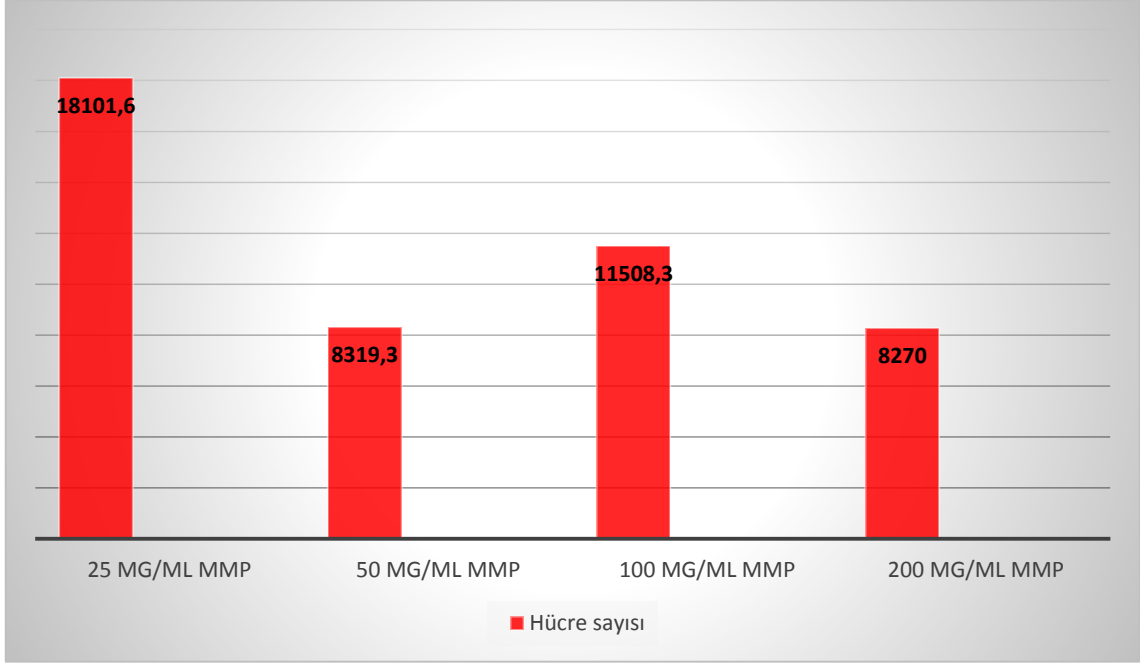
| Hücre Sayısı         | Birinci Diş    | İkinci Diş     | Üçüncü Diş      | p     |
|----------------------|----------------|----------------|-----------------|-------|
| <b>25 µg/ml MMP</b>  | 18257,3±1893,1 | 18101,6±5502,4 | 232777,0±3423,9 | 0,561 |
| <b>50 µg/ml MMP</b>  | 6257,3±1314,5  | 8319,3±1077,9  | 7314,3±3106,2   | 0,733 |
| <b>100 µg/ml MMP</b> | 12967,3±3019,1 | 11508,3±1876,5 | 13012,6±1518,7  | 0,837 |
| <b>200 µg/ml MMP</b> | 9742,0±1247,7  | 13942,0±796,5  | 12011,6±2811,9  | 0,202 |

Birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Hücre sayıları; 25 µg/ml MMP derişiminde 18257,3±1893,1; 50 µg/ml MMP derişiminde 6257,3±1314,5; 100 µg/ml MMP derişiminde 12967,3±3019,1 ve 200 µg/ml MMP derişiminde 9742,0±1247,7 olarak kaydedilmiştir. İkinci gün birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması Şekil-79’da gösterilmiştir.



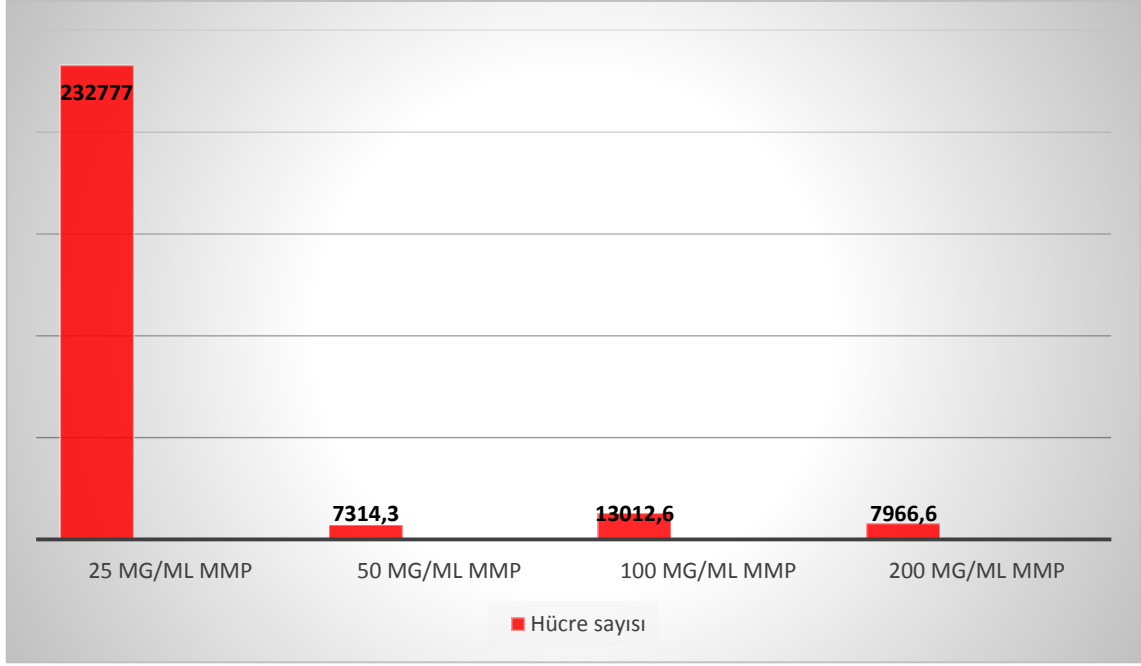
**Şekil 79.** İkinci gün birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması

İkinci gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Hücre sayıları; 25 µg/ml MMP derişiminde 18101,6±5502,4; 50 µg/ml MMP derişiminde 8319,3±1077,9; 100 µg/ml MMP derişiminde 11508,3±1876,5 ve 200 µg/ml MMP derişiminde 13942,0±796,5 olarak kaydedilmiştir. İkinci gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması Şekil-80 'de gösterilmiştir.



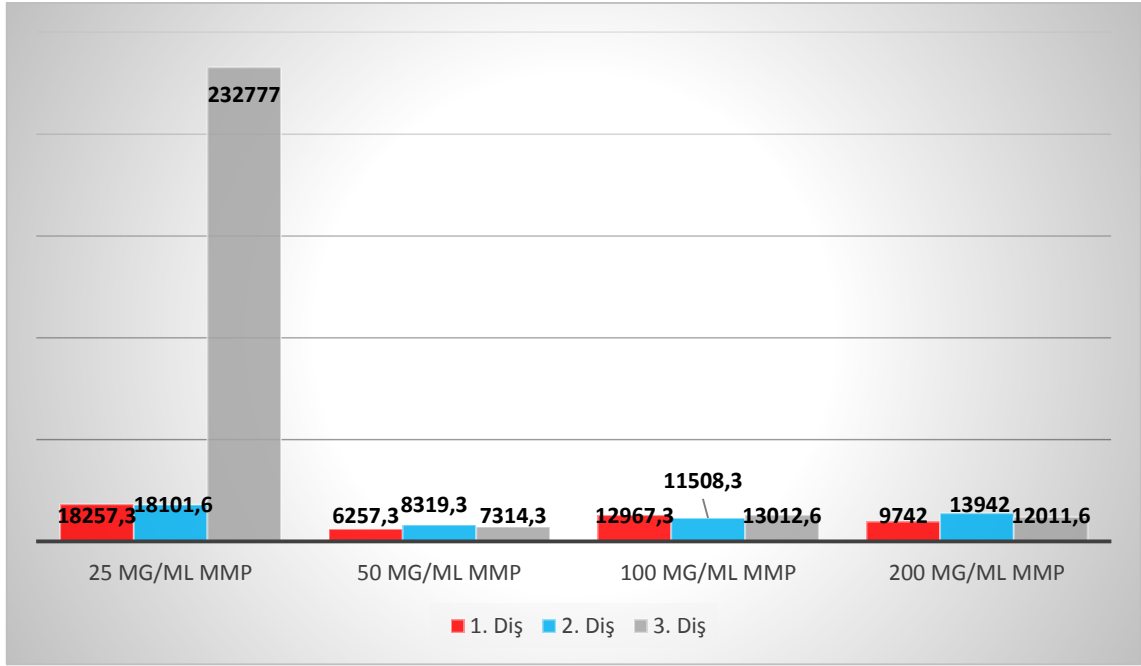
**Şekil 80.** İkinci gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması

İkinci gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Hücre sayıları; 25 µg/ml MMP derişiminde 232777,0±3423,9; 50 µg/ml MMP derişiminde 7314,3±3106,2; 100 µg/ml MMP derişiminde 13012,6±1518,7 ve 200 µg/ml MMP derişiminde 12011,6±2811,9 olarak kaydedilmiştir. İkinci gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması Şekil-81'de gösterilmiştir.



**Şekil 81.** İkinci gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması

İkinci gün üç farklı dişte 4 farklı MMP derişiminde elde edilen hücre sayıları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Birinci dişte hücre sayıları 25 µg/ml MMP derişiminde  $18257,3 \pm 1893,1$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $6257,3 \pm 1314,5$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $12967,3 \pm 3019,1$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $9742,0 \pm 1247,7$  olarak kaydedilmiştir. İkinci dişte hücre sayıları 25 µg/ml MMP derişiminde  $18101,6 \pm 5502,4$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $8319,3 \pm 1077,9$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $11508,3 \pm 1876,5$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $13942,0 \pm 796,5$  olarak kaydedilmiştir. Üçüncü dişte hücre sayıları 25 µg/ml MMP derişiminde  $232777,0 \pm 3423,9$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $7314,3 \pm 3106,2$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $13012,6 \pm 1518,7$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $12011,6 \pm 2811,9$  olarak kaydedilmiştir. İkinci gün dört farklı MMP derişiminde, üç dişte elde edilen hücre sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). İkinci gün dört farklı MMP derişiminde üç dişte elde edilen hücre sayıları Şekil-82’de karşılaştırılmıştır.



**Şekil 82.** İkinci gün dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre sayılarının karşılaştırılması

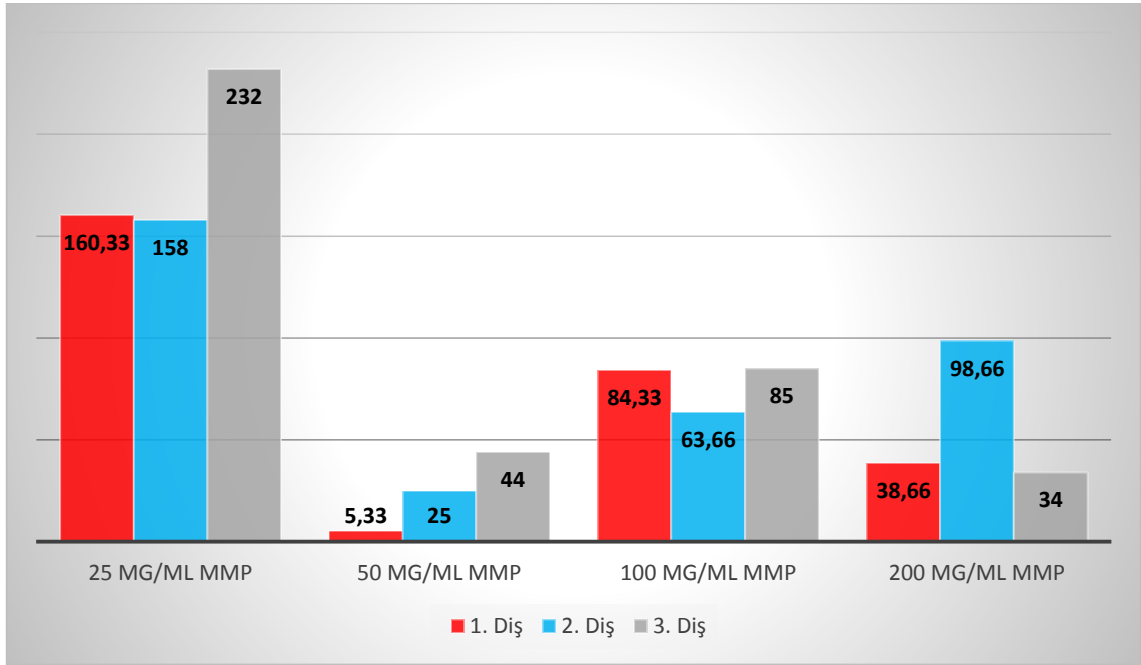
Hücre proliferasyon yüzdesi; dört gün boyunca, dört farklı MMP derişiminde ve 3 farklı dişte değerlendirilmiştir. İkinci gün elde edilen proliferasyon yüzdesinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-18’de gösterilmiştir.

**Tablo 18.** İkinci gün elde edilen proliferasyon yüzdesinin ortalama ve standart sapma değerleri (Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

| Proliferasyon yüzdesi | Birinci Diş (Ort±Ss) | İkinci Diş (Ort±Ss) | Üçüncü Diş (Ort±Ss) | p     |
|-----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|-------|
| 25 µg/ml MMP          | 160,33±27,06         | 158,00±78,42        | 232,00±48,77        | 0,561 |
| 50 µg/ml MMP          | 5,33±4,81            | 25,00±11,53         | 44,00±23,35         | 0,211 |
| 100 µg/ml MMP         | 84,33±43,02          | 63,66±26,82         | 85,33±21,86         | 0,837 |
| 200 µg/ml MMP         | 38,66±17,64          | 98,66±11,46         | 71,00±39,92         | 0,202 |

İkinci gün üç farklı dişte 4 farklı MMP derişiminde elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Birinci dişte hücre proliferasyon yüzdesi; 25 µg/ml MMP derişiminde 160,33±27,06; 50 µg/ml MMP derişiminde 5,33±4,81; 100 µg/ml MMP derişiminde 84,33±43,02 ve 200 µg/ml MMP

derişiminde  $38,66 \pm 17,64$  olarak kaydedilmiştir. İkinci dişte hücre proliferasyon yüzdesi; 25 µg/ml MMP derişiminde  $158,00 \pm 78,42$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $25,00 \pm 11,53$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $63,66 \pm 26,82$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $98,66 \pm 11,46$  olarak kaydedilmiştir. Üçüncü dişte hücre proliferasyon yüzdesi; 25 µg/ml MMP derişiminde  $232,00 \pm 48,77$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $44,00 \pm 23,35$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $85,33 \pm 21,86$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $71,00 \pm 39,92$  olarak kaydedilmiştir. İkinci gün 4 farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). İkinci gün dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi Şekil-83’de karşılaştırılmıştır.



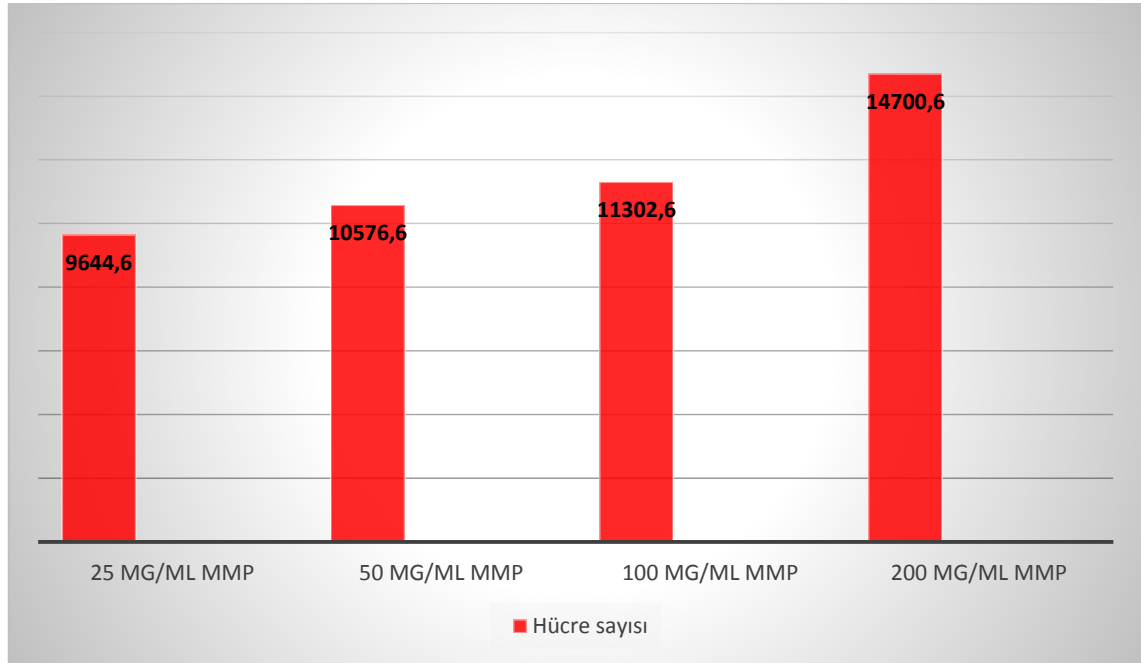
**Şekil 83.** İkinci gün dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesinin karşılaştırılması

Üçüncü gün hücre sayısının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-19’da gösterilmiştir.

**Tablo 19.** Üçüncü gün hücre sayısının ortalama ve standart sapma değerleri (Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

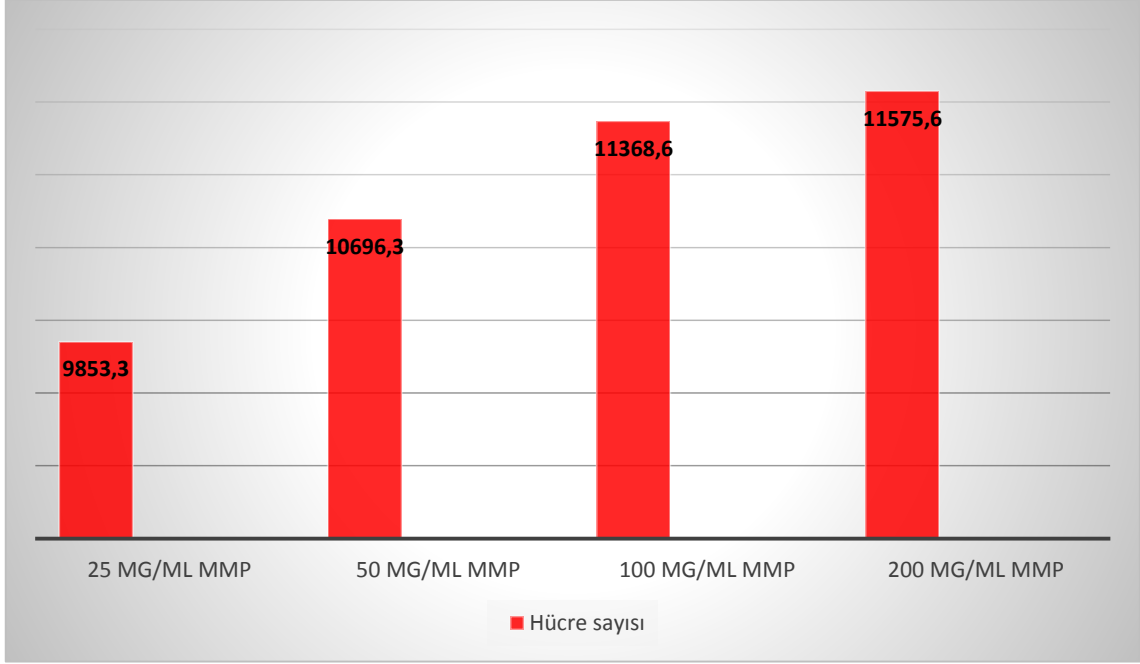
| Hücre Sayısı         | Birinci Diş<br>(Ort±Ss) | İkinci Diş<br>(Ort±Ss) | Üçüncü Diş<br>(Ort±Ss) | p     |
|----------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------|
| <b>25 µg/ml MMP</b>  | 9644,6±1556,7           | 9853,3±791,1           | 11199,3±1269,3         | 0,561 |
| <b>50 µg/ml MMP</b>  | 10576,6±1218,3          | 10696,3±1527,7         | 10492,3±1533,9         | 0,875 |
| <b>100 µg/ml MMP</b> | 11302,6±1057,5          | 11368,6±1869,6         | 11725,0±542,0          | 0,875 |
| <b>200 µg/ml MMP</b> | 14700,6±4651,6          | 11575,6±2137,0         | 12522,6±2267,0         | 0,832 |

Birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Hücre sayıları; 25 µg/ml MMP derişiminde 9644,6±1556,7; 50 µg/ml MMP derişiminde 10576,6±1218,3; 100 µg/ml MMP derişiminde 11302,6±1057,5 ve 200 µg/ml MMP derişiminde 14700,6±4651,6 olarak kaydedilmiştir. Üçüncü gün birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması Şekil-84’de gösterilmiştir.



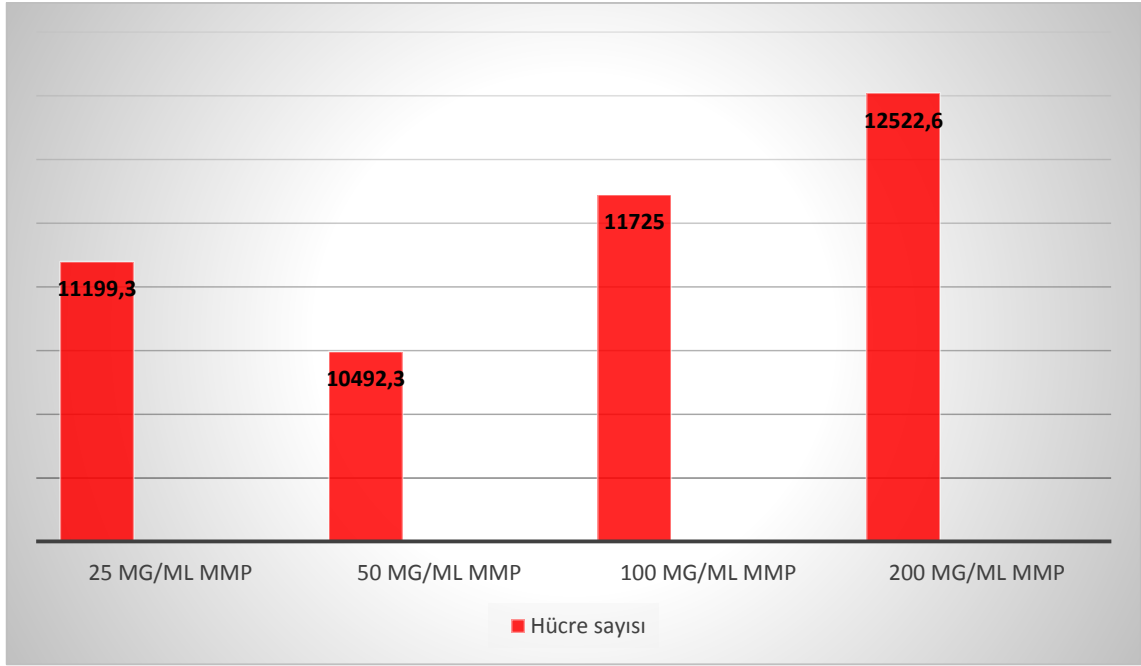
**Şekil 84.** Üçüncü gün birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması

Üçüncü gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Hücre sayıları; 25 µg/ml MMP derişiminde 9853,3±791,1; 50 µg/ml MMP derişiminde 10696,3±1527,7; 100 µg/ml MMP derişiminde 11368,6±1869,6 ve 200 µg/ml MMP derişiminde 11575,6±2137,0 olarak kaydedilmiştir. Üçüncü gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması Şekil-85’de gösterilmiştir.



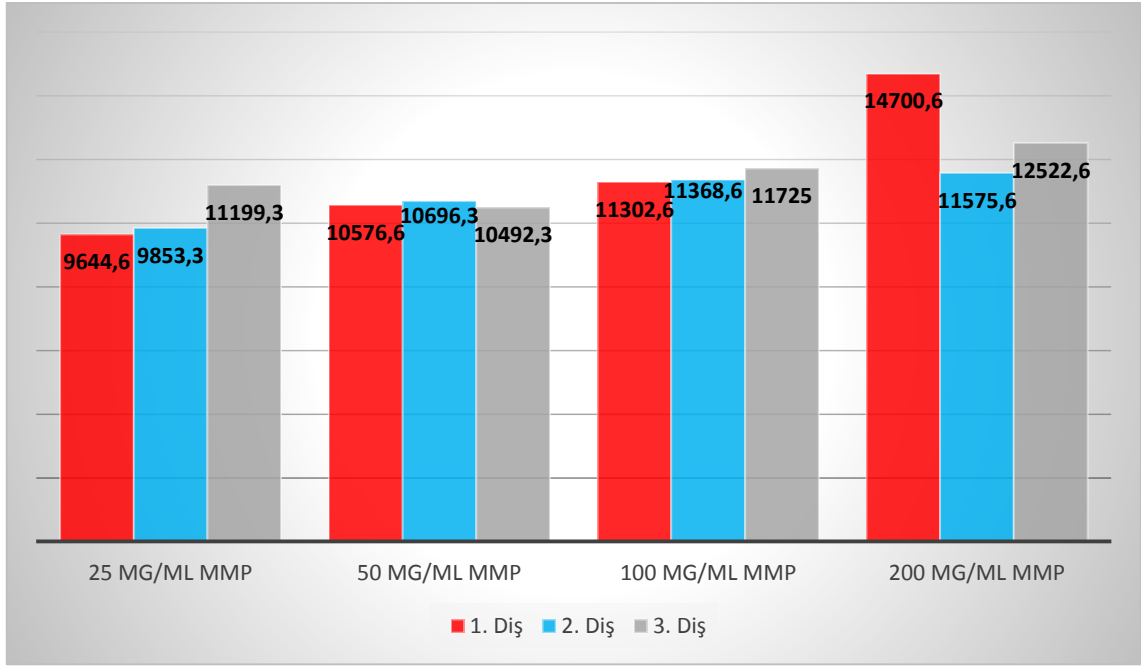
**Şekil 85.** Üçüncü gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması

Üçüncü gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Hücre sayıları; 25 µg/ml MMP derişiminde 11199,3±1269,3; 50 µg/ml MMP derişiminde 10492,3±1533,9; 100 µg/ml MMP derişiminde 11725,0±542,0 ve 200 µg/ml MMP derişiminde 12522,6±2267,0 olarak kaydedilmiştir. Üçüncü gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması Şekil-86’da gösterilmiştir.



**Şekil 86.** Üçüncü gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması

Üçüncü gün üç farklı dişte 4 farklı MMP derişiminde elde edilen hücre sayıları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Birinci dişte hücre sayıları 25 µg/ml MMP derişiminde  $9644,6 \pm 1556,7$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $10576,6 \pm 1218,3$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $11302,6 \pm 1057,5$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $14700,6 \pm 4651,6$  olarak kaydedilmiştir. İkinci dişte hücre sayıları 25 µg/ml MMP derişiminde  $9853,3 \pm 791,1$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $10696,3 \pm 1527,7$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $11368,6 \pm 1869,6$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $11575,6 \pm 2137,0$  olarak kaydedilmiştir. Üçüncü dişte hücre sayıları 25 µg/ml MMP derişiminde  $11199,3 \pm 1269,3$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $10492,3 \pm 1533,9$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $11725,0 \pm 542,0$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $12522,6 \pm 2267,0$  olarak kaydedilmiştir. Üçüncü gün dört farklı MMP derişiminde, üç dişte elde edilen hücre sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Üçüncü gün dört farklı MMP derişiminde üç dişte elde edilen hücre sayıları Şekil-87’de karşılaştırılmıştır.



**Şekil 87.** Üçüncü gün dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre sayılarının karşılaştırılması

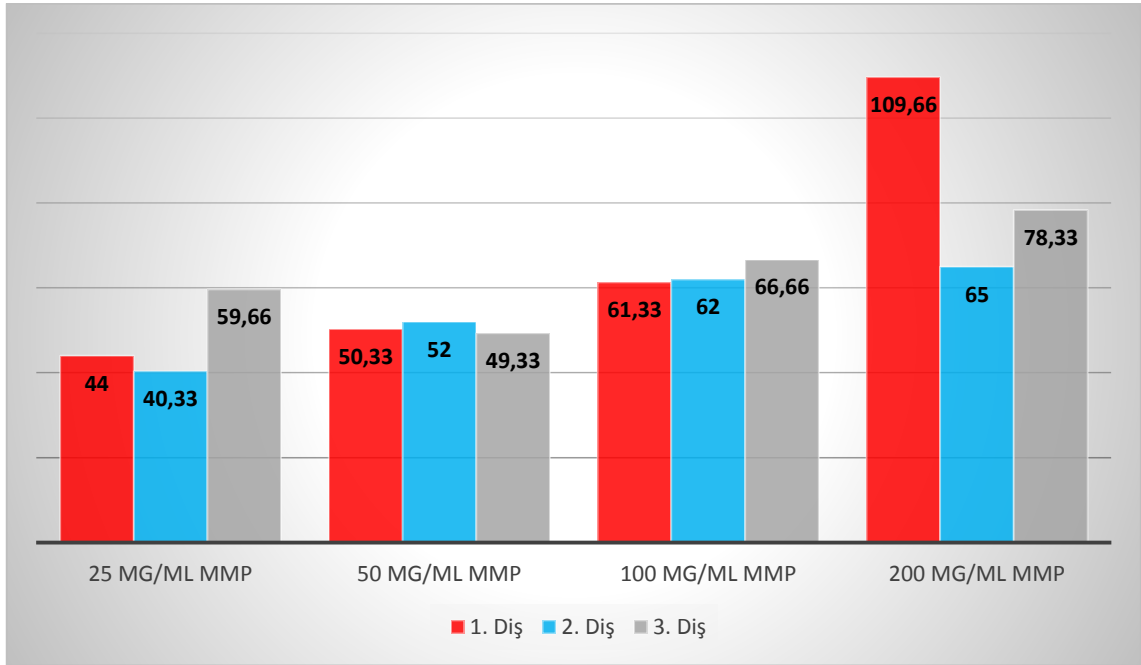
Üçüncü gün elde edilen proliferasyon yüzdesinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-20’de gösterilmiştir.

**Tablo 20.** Üçüncü gün elde edilen proliferasyon yüzdesinin ortalama ve standart sapma değerleri (Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

| Proliferasyon yüzdesi | Birinci Diş (Ort±Ss) | İkinci Diş (Ort±Ss) | Üçüncü Diş (Ort±Ss) | p     |
|-----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|-------|
| 25 µg/ml MMP          | 44,00±16,19          | 40,33±11,28         | 59,66±18,18         | 0,561 |
| 50 µg/ml MMP          | 50,33±17,37          | 52,00±21,77         | 49,33±21,95         | 0,875 |
| 100 µg/ml MMP         | 61,33±15,07          | 62,00±26,76         | 66,66±7,75          | 0,875 |
| 200 µg/ml MMP         | 109,66±66,24         | 65,00±30,59         | 78,33±32,17         | 0,837 |

Üçüncü gün üç farklı dişten 4 farklı MMP derişiminde elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Birinci dişte hücre proliferasyon yüzdesi; 25 µg/ml MMP derişiminde 44,00±16,19; 50 µg/ml MMP derişiminde 50,33±17,37; 100 µg/ml MMP derişiminde 61,33±15,07 ve 200 µg/ml MMP derişiminde 109,66±66,24 olarak kaydedilmiştir. İkinci dişte hücre proliferasyon

yüzdesi; 25 µg/ml MMP derişiminde 40,33±11,28; 50 µg/ml MMP derişiminde 52,00±21,77; 100 µg/ml MMP derişiminde 62,00±26,76 ve 200 µg/ml MMP derişiminde 65,00±30,59 olarak kaydedilmiştir. Üçüncü dişte hücre proliferasyon yüzdesi; 25 µg/ml MMP derişiminde 59,66±18,18; 50 µg/ml MMP derişiminde 49,33±21,95; 100 µg/ml MMP derişiminde 66,66±7,75 ve 200 µg/ml MMP derişiminde 78,33±32,17 olarak kaydedilmiştir. Üçüncü gün 4 farklı MMP derişiminde üç diştten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Üçüncü gün dört farklı MMP derişiminde üç diştten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi Şekil-88’de karşılaştırılmıştır.



**Şekil 88.** Üçüncü gün dört farklı MMP derişiminde üç diştten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesinin karşılaştırılması

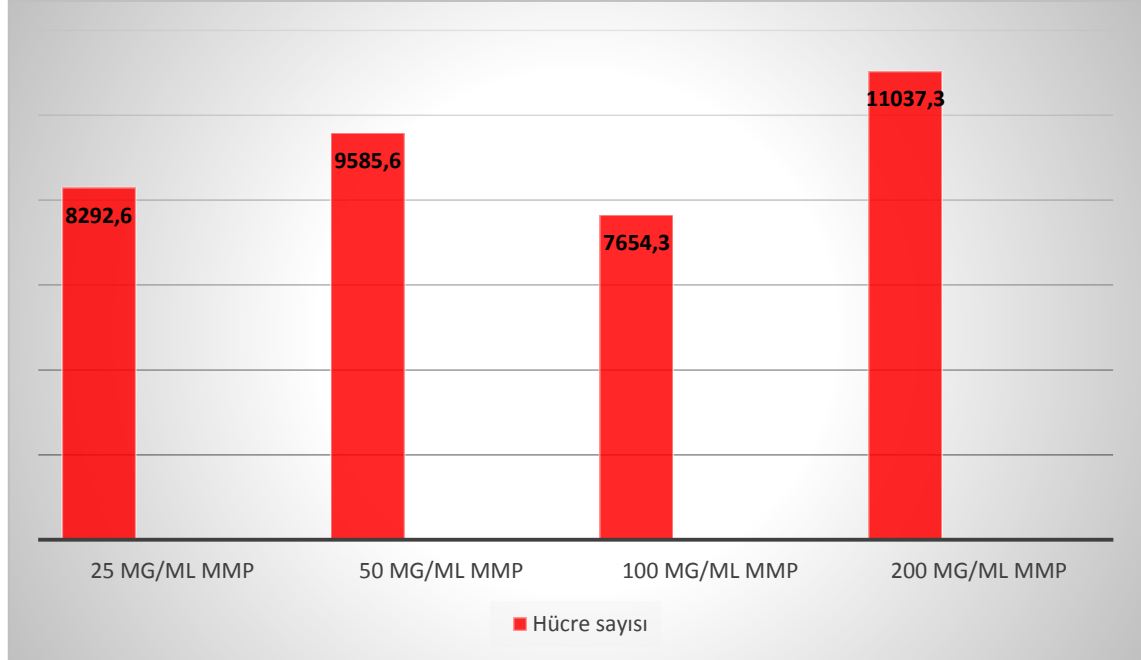
Dördüncü gün hücre sayısının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-21’de gösterilmiştir.

**Tablo 21.** Dördüncü gün hücre sayısının ortalama ve standart sapma değerleri (Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

| Hücre Sayısı  | Birinci Diş<br>(Ort±Ss) | İkinci Diş<br>(Ort±Ss) | Üçüncü Diş<br>(Ort±Ss) | p      |
|---------------|-------------------------|------------------------|------------------------|--------|
| 25 µg/ml MMP  | 8292,66±193,49          | 7748,33±122,68         | 10644,33±993,33        | 0,032* |
| 50 µg/ml MMP  | 9585,66±814,94          | 8974,33±447,70         | 10861,00±1063,64       | 0,288  |
| 100 µg/ml MMP | 7654,33±337,99          | 7328,66±309,12         | 7814,33±174,78         | 0,393  |
| 200 µg/ml MMP | 11037,33±498,63         | 11725,66±437,57        | 12036,33±1160,68       | 0,587  |

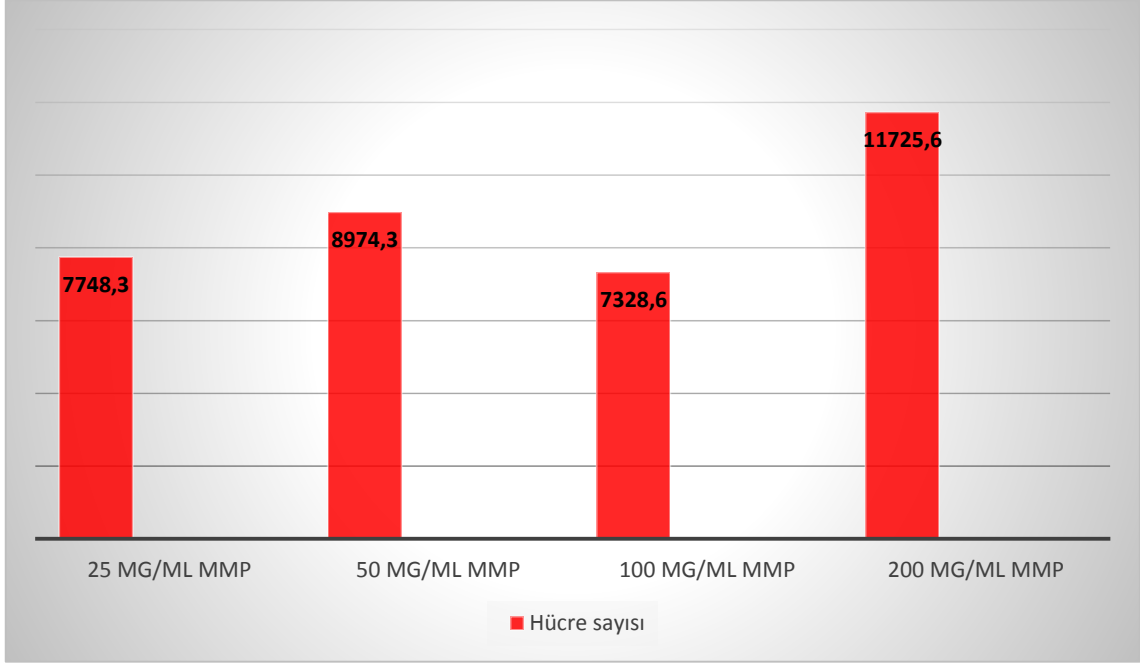
\* p<0.05

Birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Hücre sayıları; 25 µg/ml MMP derişiminde 8292,66±193,49; 50 µg/ml MMP derişiminde 9585,66±814,94; 100 µg/ml MMP derişiminde 7654,33±337,99 ve 200 µg/ml MMP derişiminde 11037,33±498,63 olarak kaydedilmiştir. Dördüncü gün birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması Şekil-89’da gösterilmiştir.



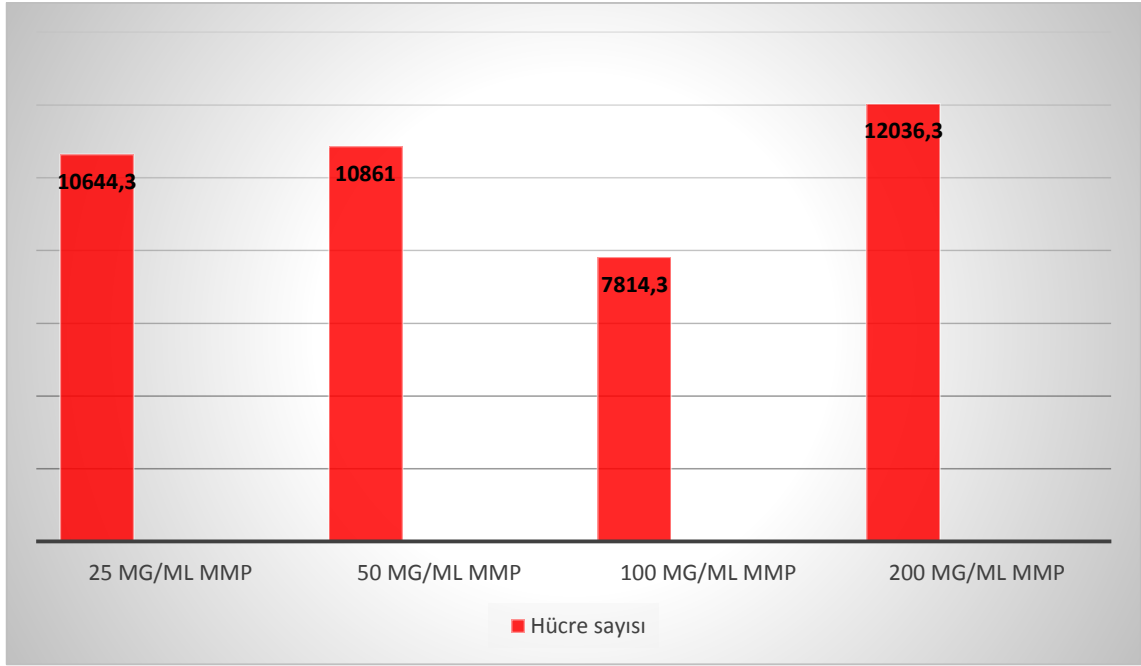
**Şekil 89.** Dördüncü gün birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması

Dördüncü gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Hücre sayıları; 25 µg/ml MMP derişiminde 7748,33±122,68; 50 µg/ml MMP derişiminde 8974,33±447,70; 100 µg/ml MMP derişiminde 7328,66±309,12 ve 200 µg/ml MMP derişiminde 11725,66±437,57 olarak kaydedilmiştir. Dördüncü gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması Şekil-90’da gösterilmiştir.



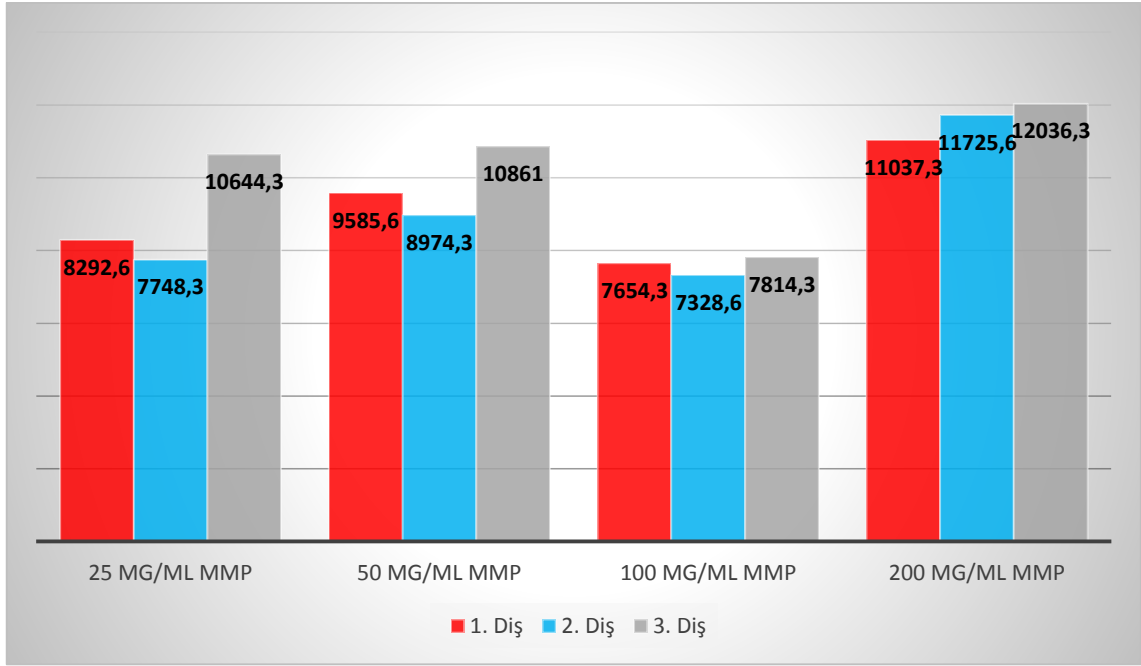
**Şekil 90.** Dördüncü gün ikinci dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması

Dördüncü gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Hücre sayıları; 25 µg/ml MMP derişiminde 10644,33±993,33; 50 µg/ml MMP derişiminde 10861,00±1063,64; 100 µg/ml MMP derişiminde 7814,33±174,78 ve 200 µg/ml MMP derişiminde 12036,33±1160,68 olarak kaydedilmiştir. Dördüncü gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması Şekil-91’de gösterilmiştir.



**Şekil 91.** Dördüncü gün üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde hücre sayılarının karşılaştırılması

Dördüncü gün üç farklı diştten 4 farklı MMP derişiminde elde edilen hücre sayıları istatistiksel olarak değeriendirilmiştir. Birinci dişte hücre sayıları 25 µg/ml MMP derişiminde  $8292,66 \pm 193,49$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $9585,66 \pm 814,94$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $7654,33 \pm 337,99$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $11037,33 \pm 498,63$  olarak kaydedilmiştir. İkinci dişte hücre sayıları 25 µg/ml MMP derişiminde  $7748,33 \pm 122,68$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $8974,33 \pm 447,70$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $7328,66 \pm 309,12$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $11725,66 \pm 437,57$  olarak kaydedilmiştir. Üçüncü dişte hücre sayıları 25 µg/ml MMP derişiminde  $10644,33 \pm 993,33$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $10861,00 \pm 1063,64$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $7814,33 \pm 174,78$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $12036,33 \pm 1160,68$  olarak kaydedilmiştir. Dördüncü gün 25 µg/ml MMP derişiminde üç diştten elde edilen hücre sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Dördüncü gün 50 µg/ml, 100 µg/ml ve 200 µg/ml MMP derişimlerinde, üç diştten elde edilen hücre sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Dördüncü gün dört farklı MMP derişiminde üç diştten elde edilen hücre sayıları Şekil-92’de karşılaştırılmıştır.



**Şekil 92.** Dördüncü gün dört farklı MMP derişiminde üç diştten elde edilen hücre sayılarının karşılaştırılması

Dördüncü gün elde edilen proliferasyon yüzdesinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-22’de gösterilmiştir.

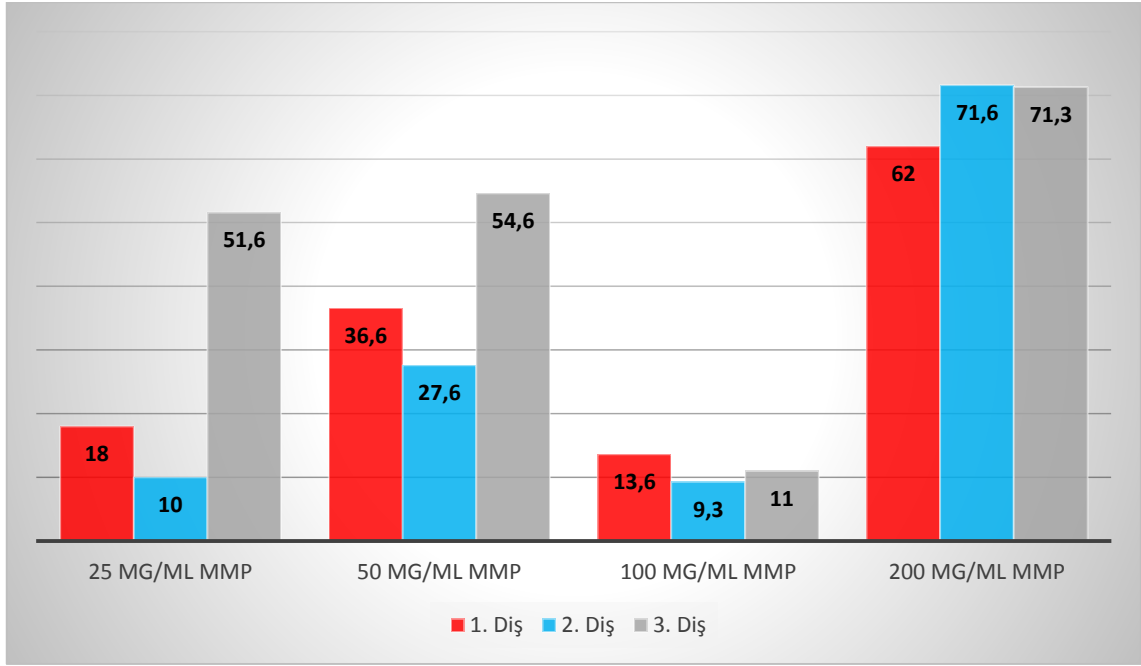
**Tablo 22.** Dördüncü gün elde edilen proliferasyon yüzdesinin ortalama ve standart sapma değerleri (Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

| Proliferasyon yüzdesi | Birinci Diş (Ort±Ss) | İkinci Diş (Ort±Ss) | Üçüncü Diş (Ort±Ss) | p      |
|-----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|--------|
| 25 µg/ml MMP          | 18,00±2,88           | 10,00±1,73          | 51,66±14,07         | 0,032* |
| 50 µg/ml MMP          | 36,66±11,68          | 27,66±6,56          | 54,66±15,07         | 0,288  |
| 100 µg/ml MMP         | 13,66±7,31           | 9,33±1,66           | 11,00±2,30          | 0,661  |
| 200 µg/ml MMP         | 62,00±2,64           | 71,66±2,18          | 71,33±16,56         | 0,288  |

\* p<0.05

Dördüncü gün üç farklı diştten 4 farklı MMP derişiminde elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Birinci dişte hücre proliferasyon yüzdesi; 25 µg/ml MMP derişiminde 18,00±2,88; 50 µg/ml MMP derişiminde 36,66±11,68; 100 µg/ml MMP derişiminde 13,66±7,31 ve 200 µg/ml MMP derişiminde 62,00±2,64 olarak kaydedilmiştir. İkinci dişte hücre proliferasyon yüzdesi;

25 µg/ml MMP derişiminde  $10,00 \pm 1,73$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $27,66 \pm 6,56$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $9,33 \pm 1,66$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $71,66 \pm 2,18$  olarak kaydedilmiştir. Üçüncü dişte hücre proliferasyon yüzdesi; 25 µg/ml MMP derişiminde  $51,66 \pm 14,07$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $54,66 \pm 15,07$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $11,00 \pm 2,30$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $71,33 \pm 16,56$  olarak kaydedilmiştir. Dördüncü gün 25 µg/ml MMP derişiminde üç diştten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Dördüncü gün 50 µg/ml, 100 µg/ml ve 200 µg/ml MMP derişimlerinde, üç diştten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Dördüncü gün dört farklı MMP derişiminde üç diştten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi Şekil-93’de karşılaştırılmıştır.



**Şekil 93.** Dördüncü gün dört farklı MMP derişiminde üç diştten elde edilen hücre proliferasyon yüzdelерinin karşılaştırılması

#### 4.3.2. Farklılaşma sonrası mineralizasyonun değerlendirilmesi

3 ve 4 haftalık osteojenik indüksiyon sonunda MMP’nin etkisi ile oluşan *in vitro* osteogeneze bağılı mineralizasyon odakları incelenmiştir. Mineralizasyon düzeyi, invert ışık mikroskopunda her örnekten rastgele seçilen 5 alanda olmak üzere, ortalama değerlerde mineralizasyon düzeyleri incelenerek gerçekleştirilmiştir. Sadece hücre

kültür vasatı içeren kuyucukların mineralizasyon yüzdesi 3 haftada % 5, 4 haftada % 10; sadece MMP deneysel grubunu içeren kuyucukların mineralizasyon yüzdesi 3 haftada % 10, 4 haftada % 15; sadece osteojenik indüksiyon deneysel grubunu içeren kuyucukların mineralizasyon yüzdesi 3 haftada % 15, 4 haftada % 20; osteojenik indüksiyon+MMP deneysel grubunu içeren kuyucukların mineralizasyon yüzdesi 3 haftada % 20, 4 haftada % 25 olarak belirlenmiştir.

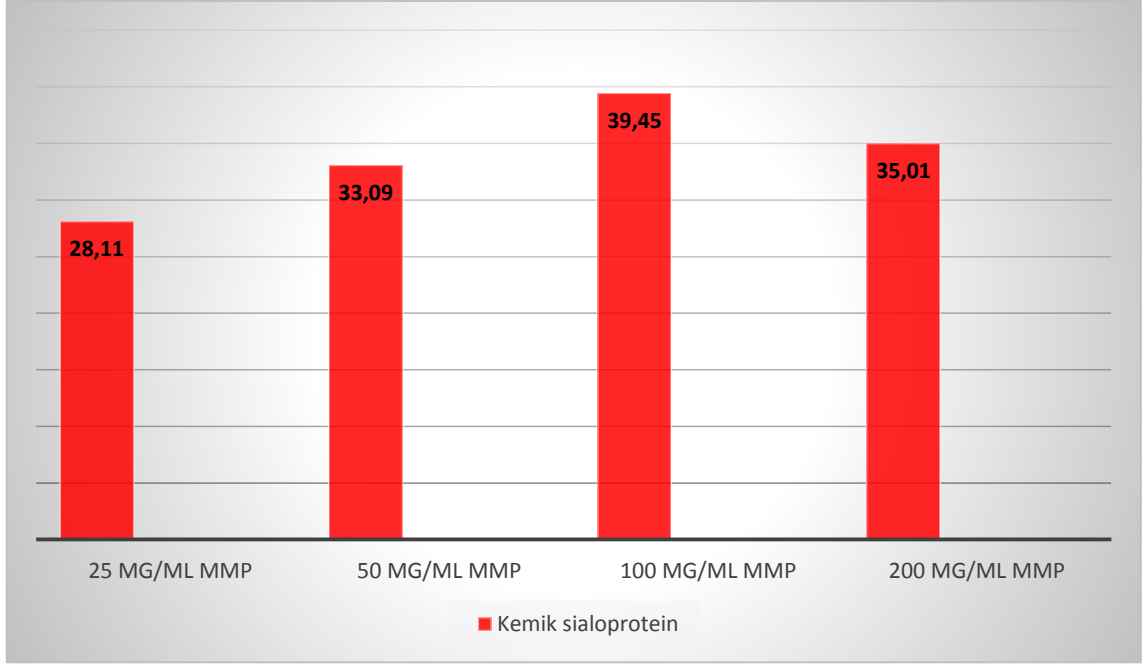
#### 4.3.3. Farklılaşmas sonrası osteojenik işaretçilerin değerlendirilmesi

Kemik sialoprotein seviyesi dört farklı MMP derişiminde ve 3 farklı dişte değerlendirilmiştir. Kemik sialoprotein'in ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-23'de gösterilmiştir.

**Tablo 23.** Kemik sialoprotein ortalama ve standart sapma değerleri (Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

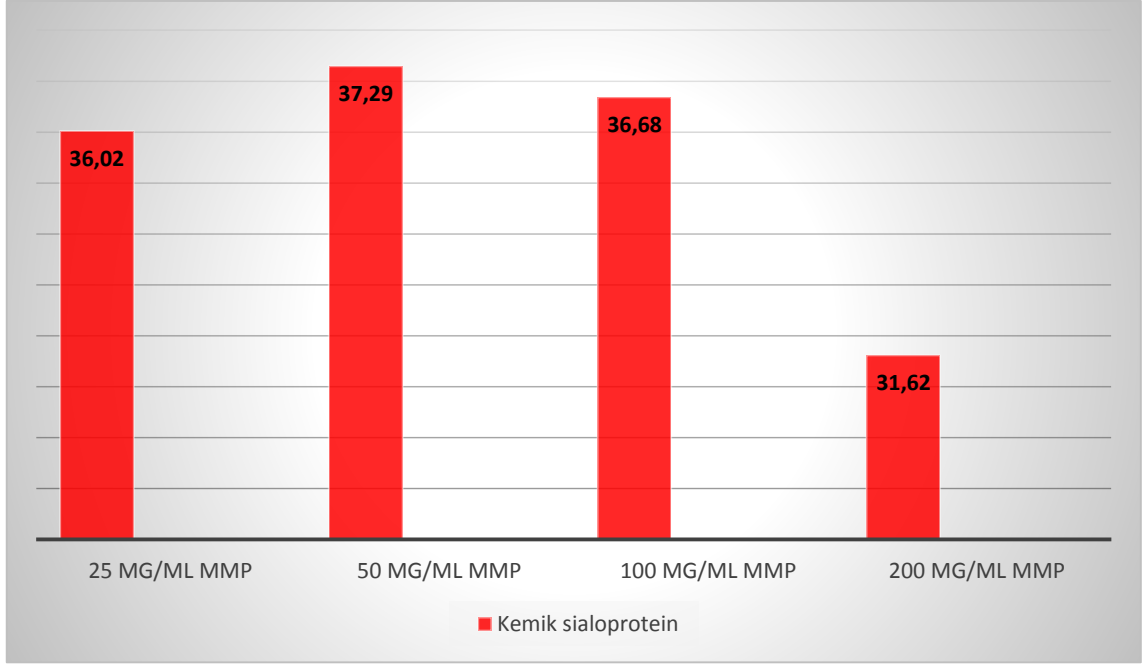
| <b>KEMİK SİALOPROTEİN (ng/ml)</b> | <b>Birinci Diş (Ort±Ss)</b> | <b>İkinci Diş (Ort±Ss)</b> | <b>Üçüncü Diş (Ort±Ss)</b> | <b>p</b> |
|-----------------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------|
| <b>25 µg/ml MMP</b>               | 28,11±16,51                 | 36,02±4,31                 | 39,16±9,11                 | 0,668    |
| <b>50 µg/ml MMP</b>               | 33,09±8,81                  | 37,29±5,26                 | 37,69±8,10                 | 0,794    |
| <b>100 µg/ml MMP</b>              | 39,45±11,63                 | 36,68±4,52                 | 41,02±3,51                 | 0,491    |
| <b>200 µg/ml MMP</b>              | 35,01±5,42                  | 31,62±4,95                 | 37,92±4,96                 | 0,287    |

Birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde kemik sialoprotein değerleri istatistiksel olarak analiz edilmiştir. 25 µg/ml MMP derişiminde elde edilen kemik sialoprotein değeri 28,11±16,51; 50 µg/ml MMP derişiminde elde edilen kemik sialoprotein değeri 33,09±8,81; 100 µg/ml MMP derişiminde elde edilen kemik sialoprotein değeri 39,45±11,63 ve 200 µg/ml MMP derişiminde elde edilen kemik sialoprotein değeri 35,01±5,42 olarak kaydedilmiştir. Birinci dişte elde edilen kemik sialoprotein değerleri Şekil-94'de gösterilmiştir.



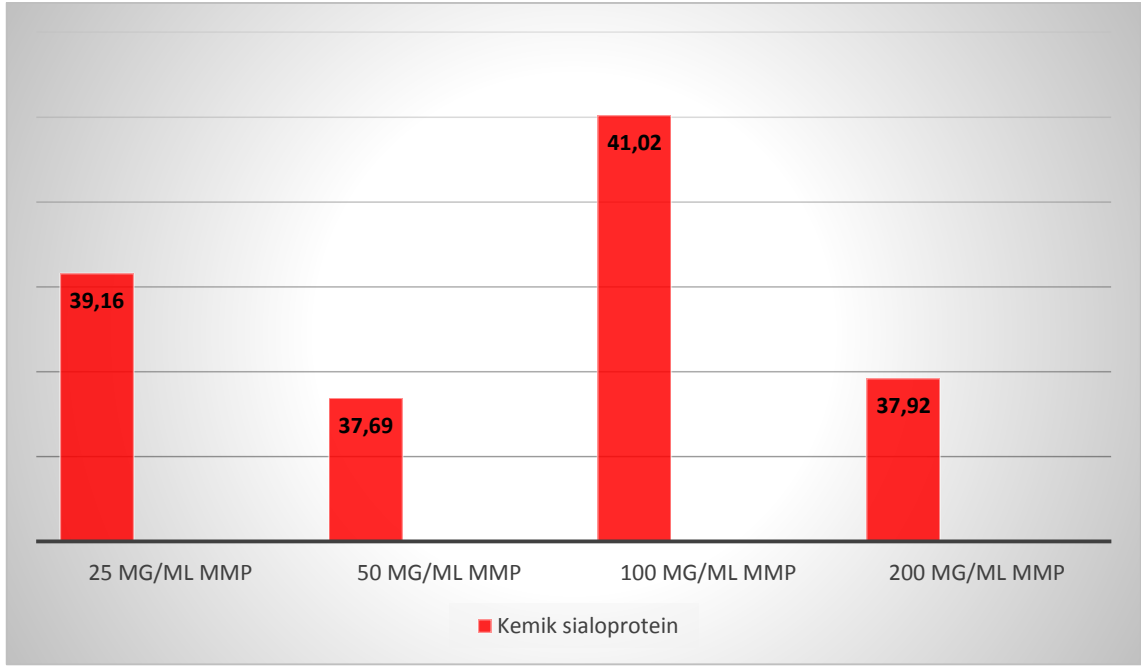
**Şekil 94.** Birinci dişte kemik sialoprotein seviyelerinin karşılaştırılması

İkinci dişte 4 farklı MMP derişiminde kemik sialoprotein değerleri istatistiksel olarak analiz edilmiştir. 25 µg/ml MMP derişiminde elde edilen kemik sialoprotein değeri  $36,02 \pm 4,31$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde elde edilen kemik sialoprotein değeri  $37,29 \pm 5,26$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde elde edilen kemik sialoprotein değeri  $36,68 \pm 4,52$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde elde edilen kemik sialoprotein değeri  $31,62 \pm 4,95$  olarak kaydedilmiştir. İkinci dişte elde edilen kemik sialoprotein değerleri Şekil-95’de gösterilmiştir.



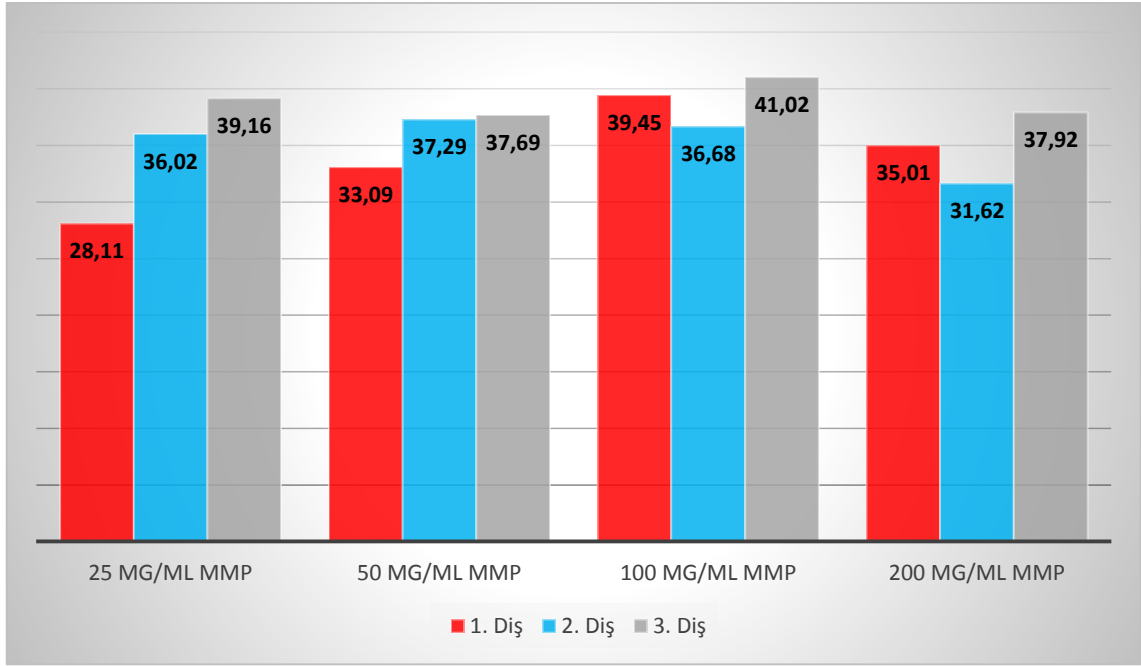
**Şekil 95.** İkinci dişte kemik sialoprotein değerlerinin karşılaştırılması

Üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde kemik sialoprotein değerleri istatistiksel olarak analiz edilmiştir. 25 µg/ml MMP derişiminde elde edilen kemik sialoprotein değeri 39,16±9,11; 50 µg/ml MMP derişiminde elde edilen kemik sialoprotein değeri 37,69±8,10; 100 µg/ml MMP derişiminde elde edilen kemik sialoprotein değeri 41,02±3,51 ve 200 µg/ml MMP derişiminde elde edilen kemik sialoprotein değeri 37,92±4,96 olarak kaydedilmiştir. Üçüncü dişte elde edilen kemik sialoprotein değerleri Şekil-96’da gösterilmiştir.



**Şekil 96.** Üçüncü dişte kemik sialoprotein değerlerinin karşılaştırılması

Üç farklı dişte 4 farklı MMP derişiminde elde edilen kemik sialoprotein değerleri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Birinci dişte kemik sialoprotein seviyeleri 25 µg/ml MMP derişiminde  $28,11 \pm 16,51$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $33,09 \pm 8,81$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $39,45 \pm 11,63$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $35,01 \pm 5,42$  olarak kaydedilmiştir. İkinci dişte kemik sialoprotein değerleri 25 µg/ml MMP derişiminde  $36,02 \pm 4,31$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $37,29 \pm 5,26$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $36,68 \pm 4,52$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $31,62 \pm 4,95$  olarak kaydedilmiştir. Üçüncü dişte kemik sialoprotein değerleri 25 µg/ml MMP derişiminde  $39,16 \pm 9,11$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $37,69 \pm 8,10$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $41,02 \pm 3,51$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $37,92 \pm 4,96$  olarak kaydedilmiştir. Dört farklı MMP derişiminde, üç dişten elde edilen kemik sialoprotein değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Dört farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen kemik sialoprotein değerleri Şekil-97’de karşılaştırılmıştır.



**Şekil 97.** Üç farklı diştten elde edilen kemik sialoprotein değerlerinin karşılaştırılması

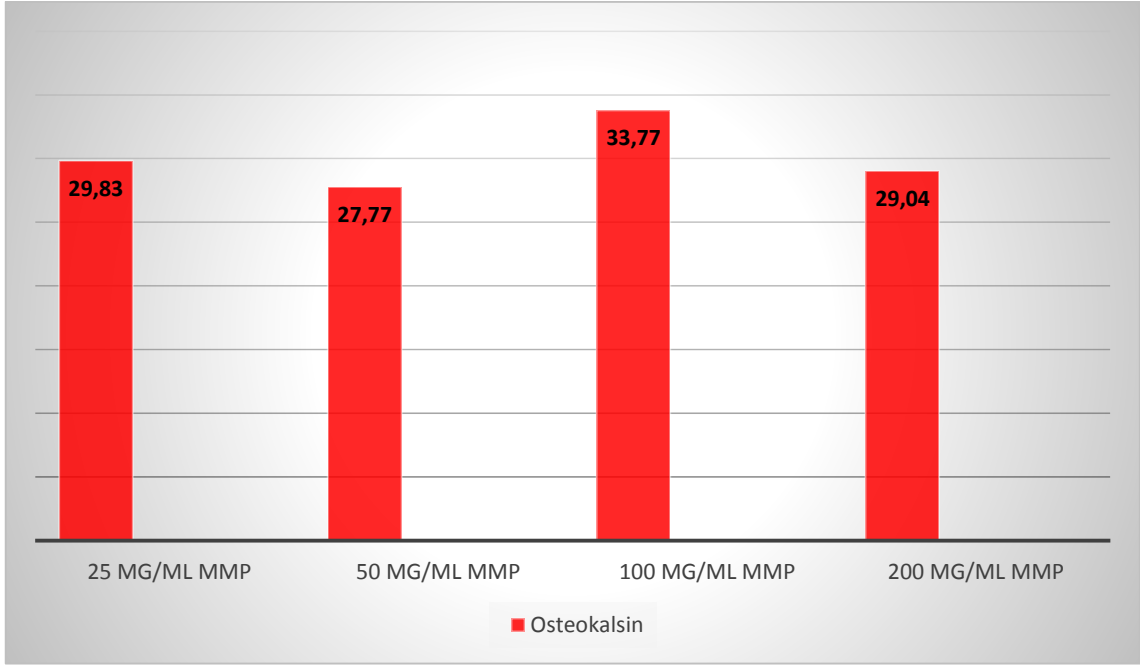
Osteokalsin değerleri; dört farklı MMP derişiminde ve 3 farklı dişte değerlendirilmiştir. Osteokalsin'in ortalama ve standart sapma değerleri Tablo-24'de gösterilmiştir.

**Tablo 24.** Osteokalsin ortalama ve standart sapma değerleri (Ort±Ss= Ortalama ± Standart sapma)

| OSTEOKALSİN<br>(ng/ml) | Birinci Diş<br>(Ort±Ss) | İkinci Diş<br>(Ort±Ss) | Üçüncü Diş<br>(Ort±Ss) | p      |
|------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|--------|
| 25 µg/ml MMP           | 29,83±7,65              | 31,92±5,62             | 47,66±9,44             | 0,025* |
| 50 µg/ml MMP           | 27,77±0,61              | 31,89±8,20             | 50,46±20,43            | 0,026* |
| 100 µg/ml MMP          | 33,77±3,14              | 35,65±14,89            | 44,80±14,19            | 0,584  |
| 200 µg/ml MMP          | 29,04±5,48              | 33,57±4,19             | 37,79±5,25             | 0,146  |

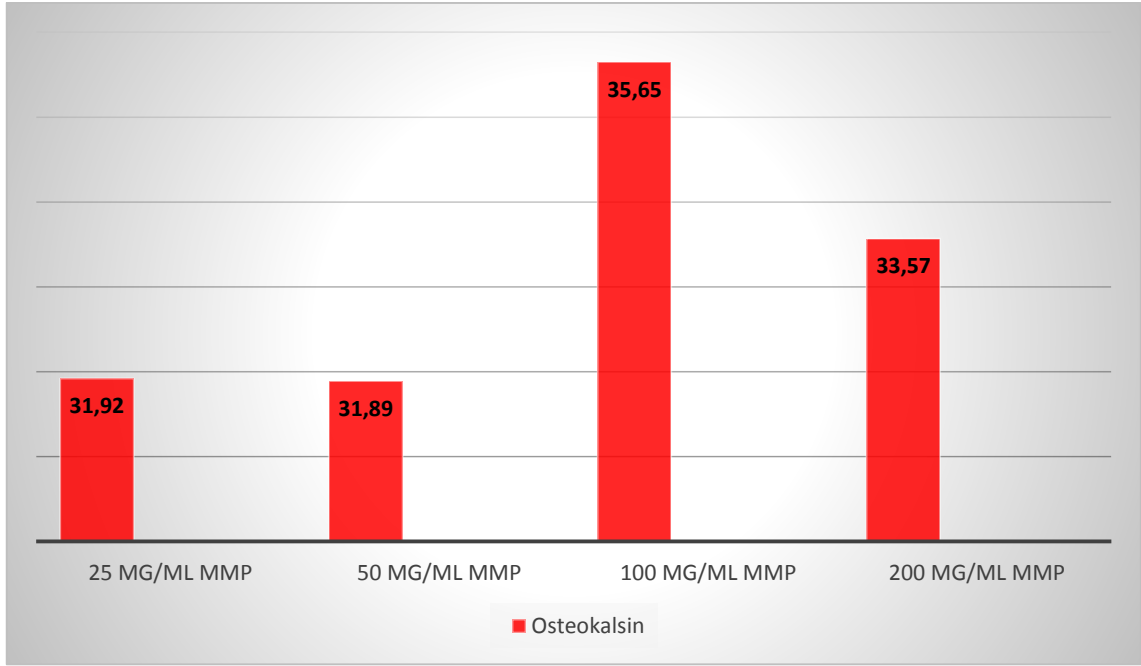
\* p<0.05

Birinci dişte 4 farklı MMP derişiminde osteokalsin değerleri istatistiksel olarak analiz edilmiştir. 25 µg/ml MMP derişiminde elde edilen osteokalsin değeri  $29,83 \pm 7,65$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde elde edilen osteokalsin değeri  $33,09 \pm 8,81$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde elde edilen osteokalsin değeri  $39,45 \pm 11,63$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde elde edilen osteokalsin değeri  $29,04 \pm 5,48$  olarak kaydedilmiştir. Birinci dişte elde edilen osteokalsin değerleri Şekil-98’de gösterilmiştir.



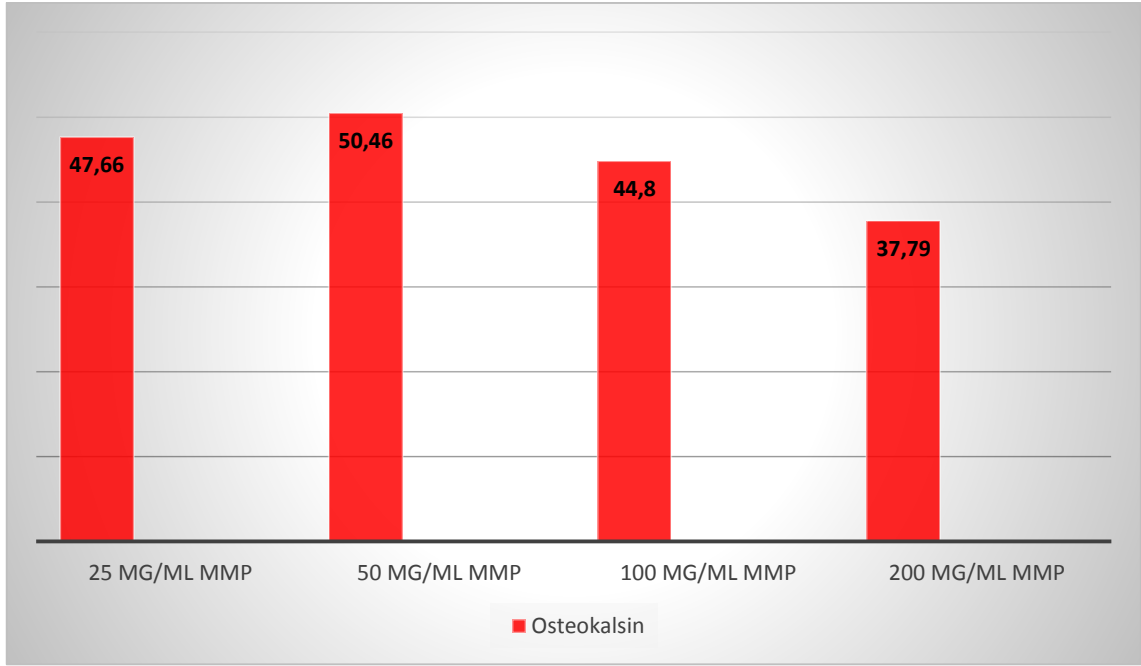
**Şekil 98.** Birinci dişte osteokalsin değerlerinin karşılaştırılması

İkinci dişte 4 farklı MMP derişiminde osteokalsin değerleri istatistiksel olarak analiz edilmiştir. 25 µg/ml MMP derişiminde elde edilen osteokalsin değeri  $31,92 \pm 5,62$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde elde edilen osteokalsin değeri  $31,89 \pm 8,20$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde elde edilen osteokalsin değeri  $35,65 \pm 14,89$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde elde edilen osteokalsin değeri  $33,57 \pm 4,19$  olarak kaydedilmiştir. İkinci dişte elde edilen osteokalsin değerleri Şekil-99’da gösterilmiştir.



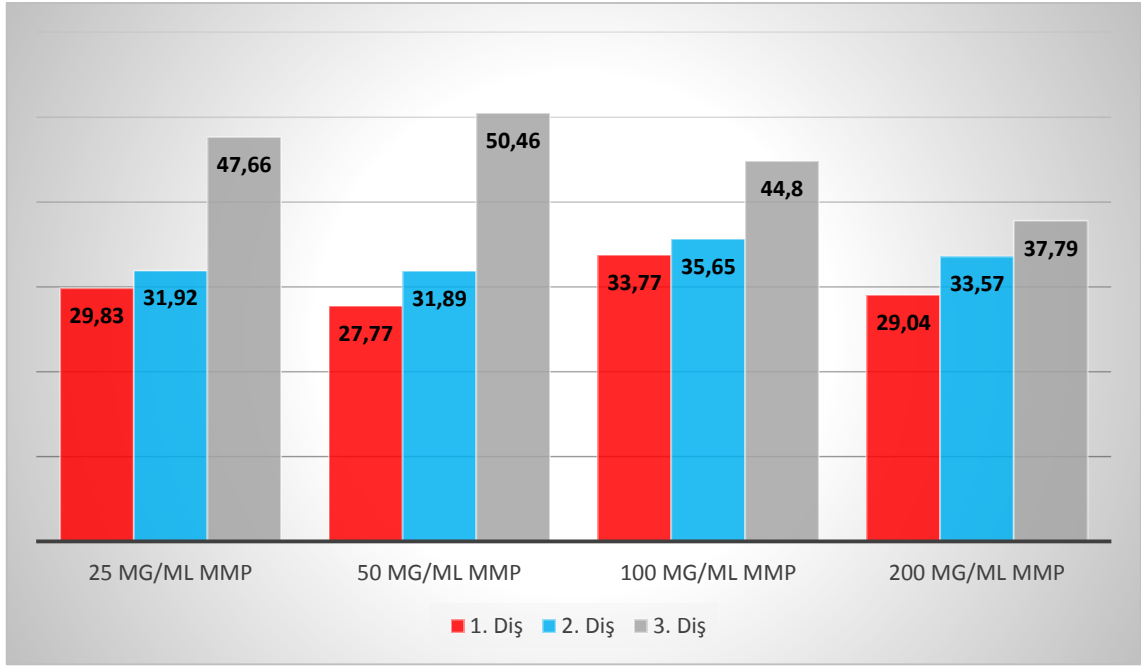
**Şekil 99.** İkinci dişte osteokalsin değerlerinin karşılaştırılması

Üçüncü dişte 4 farklı MMP derişiminde osteokalsin değerleri istatistiksel olarak analiz edilmiştir. 25 µg/ml MMP derişiminde elde edilen osteokalsin değeri  $47,66 \pm 9,44$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde elde edilen osteokalsin değeri  $50,46 \pm 20,43$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde elde edilen osteokalsin değeri  $44,80 \pm 14,19$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde elde edilen osteokalsin değeri  $37,79 \pm 5,25$  olarak kaydedilmiştir. Üçüncü dişte elde edilen osteokalsin değerleri Şekil-100’de gösterilmiştir.



**Şekil 100.** Üçüncü dişte osteokalsin değerlerinin karşılaştırılması

Üç farklı dişte 4 farklı MMP derişiminde elde edilen osteokalsin değerleri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Birinci dişte osteokalsin değerleri; 25 µg/ml MMP derişiminde  $29,83 \pm 7,65$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $33,09 \pm 8,81$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $39,45 \pm 11,63$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $29,04 \pm 5,48$  olarak kaydedilmiştir. İkinci dişte osteokalsin değerleri; 25 µg/ml MMP derişiminde  $31,92 \pm 5,62$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $31,89 \pm 8,20$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $35,65 \pm 14,89$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $33,57 \pm 4,19$  olarak kaydedilmiştir. Üçüncü dişte osteokalsin değerleri; 25 µg/ml MMP derişiminde  $47,66 \pm 9,44$ ; 50 µg/ml MMP derişiminde  $50,46 \pm 20,43$ ; 100 µg/ml MMP derişiminde  $44,80 \pm 14,19$  ve 200 µg/ml MMP derişiminde  $37,79 \pm 5,25$  olarak kaydedilmiştir. 100 µg/ml MMP derişimi ve 200 µg/ml MMP derişiminde, üç diştten elde edilen osteokalsin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). 25 µg/ml MMP derişiminde ve 50 µg/ml MMP derişiminde, üç farklı diştten elde edilen osteokalsin değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Dört farklı MMP derişiminde üç diştten elde edilen osteokalsin değerleri Şekil-101’de karşılaştırılmıştır.



**Şekil 101.** Üç farklı diştan elde edilen osteokalsin değerlerinin karşılaştırılması

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Periodontal hastalıklar; mikrobiyal dental plak ile konak cevabı arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşan kronik enflamatuar hastalıklardır. Periodontitis, bağ dokusu ve alveoler kemik yıkımı ile beraber görülen enflamatuar bir hastalıktır. Tedavi edilmediği durumlarda ataşman kaybının ilerlemesi sonucu diş kaybı ile sonuçlanmaktadır (Bosshardt ve Sculean, 2009). Mikrobiyal dental plağın ortadan kaldırılarak yıkıma uğramış periodontal dokuların morfolojik ve fonksiyonel olarak yeniden oluşturulması periodontal tedavinin temel amacını oluşturmaktadır (Wang ve Greenwell, 2001). Periodontal rejenerasyon periodonsiyumun yapı ve fonksiyon olarak tam olarak restorasyonunu ifade etmektedir. Periodontal rejenerasyon; hücre göçü, bağlanması, çoğalması ve farklılaşması gibi birçok biyolojik olay zincirini içermektedir (Pradeep ve ark., 2009). Amerikan Periodontoloji Derneği Bildirgesi tarifine göre periodontal rejenerasyon işlemleri kemik, furkasyon ve dişeti çekilmesi defektlerinde yumuşak doku greftleri, kemik greftleri, kök yüzeyi modifikasyon işlemleri ve YDR işlemlerini içermektedir (Greenwell, 2001). Yıllardır periodontal rejenerasyonun sağlanması için biyolojik etkileri olan birçok aktif molekül kullanılmıştır. Bunlar; ekstrasellüler matriks proteinleri ve hücre ataşman faktörleri, bazı hücre medyatörleri ve büyüme faktörleri olarak sıralanabilir (Pradeep ve ark., 2012).

Bu biyolojik ajanlardan en önemlisi MMP; domuz embriyosunda gelişmekte olan diş germinden elde edilen, amelogeninleri içeren, saflaştırılmış asidik bir biyomateriyaldir. MMP ile elde edilen periodontal rejenerasyon diş kökü oluşurken meydana gelen olayların taklit edilmesi prensibine dayanmaktadır. Amelogeninler MMP’de en fazla bulunan proteinlerdir ve diş dokularının oluşumu ve mineralizasyonunda önemli oldukları bildirilmiştir (Gestrelius ve ark., 2000). Hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalarda amelogeninlerin kök gelişimi sırasında belirgin biçimde arttığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda amelogeninler ile hücresiz sement arasında sıkı bir temas bulunmaktadır. İnsanlar üzerinde yapılan histolojik çalışmalarda hücresiz sement oluşmadan önce dentin yüzeyinde bir miktar MMP görüldüğü ve bu proteinlerin etkisiyle hücresiz sement oluştuğu bildirilmiştir (Sculean ve ark., 2007). MMP’nin *in vitro* ortamda hücresel ataşman oluşumuyla beraber hastalıklı kök yüzeyindeki periodontal ligament hücrelerinin çoğalması ve bağlanmasını

arttırarak rejenerasyon için matriks görevi gördüğü bildirilmiştir (Davenport ve ark., 2003).

Periodontal rejenerasyon genel olarak rejenerasyon bölgesinde bulunan hücrelere ya da o bölgeye giden rejenerasyonu uyarma yeteneğine sahip hücrelere bağlı olarak gerçekleşmektedir. Bu durumun sağlanabilmesi için rejenerasyon yeteneği olan progenitör periodontal ligament hücrelerinin kök yüzeyine göç etmeleri ve rejenerasyona engel olan hücrelerin uzak tutulabilmesi gerekmektedir (Ivanovski, 2009). İlk defa 1982 yılında Nyman ve arkadaşları tarafından geliştirilen YDR'de; kök yüzeyine fiziksel bariyer yerleştirilerek, epitel ve bağ dokusu hücrelerinin kök yüzeyine ulaşmaları engellenmiş ve periodontal ligamentten kaynaklanan hücrelerin kök yüzeyi boyunca göç etmesine izin verilerek kök yüzeyinde yeni sement ve yeni bağ dokusu atışmanı oluşumu sağlanmıştır (Nyman ve ark., 1982). Bu amaç doğrultusunda önce rezorbe olmayan membranlar geliştirilmiştir. Bu membranların operasyondan 4-6 hafta sonra ikinci bir cerrahi işlem ile bulundukları yerden çıkarılmaları gerekmektedir. Çıkarılması sırasında hem hasta hem de hekim için zaman kaybına neden olmakta ve ikinci cerrahi işlem dokuların hasar görmesine yol açmaktadır (Hammerle ve Jung, 2003). Tüm bu sebeplerden dolayı biyolojik olarak uyumlu olan ve ikinci bir cerrahi işlem gerektirmeyen rezorbe olan membranların kullanımı göndeme gelmiştir (Stavropoulos ve ark., 2011).

Bariyer membranların rejeneratif tedavideki gerekliliği ve MMP'nin hem klinik hem de hücresel düzeyde kendini kanıtlamış bir biyolojik ajan olmasından yola çıkarak yaptığımız bu çalışmada; MMP'nin kemik içi defekt bulunan kronik periodontitis hastalarında YDR'ye ek olarak ve aynı zamanda *in vitro* ortamdaki etkinliğini tespit etmek amaçlandı.

Rejeneratif tedavi uygulanan hasta grubu değerlendirildiğinde kronik periodontitisli hastaların daha çok tercih edildiği görülmektedir (Zucchelli ve ark., 2002; Sharma ve Pradeep, 2011; Pradeep ve ark., 2012). Bu nedenle çalışmamızda belirlenen hasta grupları klinik ve radyolojik olarak kronik periodontitis tanısı konulmuş hastalar arasından seçilmiştir.

Hastaya ait faktörler rejeneratif tedavide sağlanacak başarıyı etkilemektedir. Periodontal hastalıklar çeşitli risk faktörleri ile ilişkilidir. Bu faktörlerin en başında hastanın sistemik durumu gelmektedir. Diabet, lösemi, trombositopeni ve lökosit hastalıkları gibi immün sistem yetmezliği ve otoimmün hastalıklarda konak cevabı ve immün fonksiyon bozulmaktadır. Bunun sonucunda enfeksiyon riski artarak periodontitis şiddeti artmaktadır (Pihlstrom ve ark., 2005; Andersen ve ark., 2007). Bu hastalıkların tedavisinde kullanılan kortikosteroid ve immünsüpresif ilaçların doku cevabını bozarak rejeneratif tedavi sonuçlarını etkilediği düşünülmektedir (Alani ve Seymour, 2014). Tüm bu hastalıkların ve ilaçların rejeneratif tedavide konak cevabı üzerindeki olumsuz etkisinden dolayı çalışmamızda hastalardan ayrıntılı anamnez alınarak sistemik olarak sağlıklı bireyler seçilmiştir.

Periodontitis gelişimi için bir başka risk faktöründe sigara kullanımıdır. Sigaranın konak savunma sistemini olumsuz yönde etkileyerek periodontal yıkımı arttırdığı bildirilmiştir. Sistemik olarak nötrofillerin kemotaksis özelliklerinin ve fibroblastların kollajen üretiminin azalmasına, immünglobulin G üretiminin azalmasına, kemik yıkımına neden olan sitokinlerin artmasına neden olduğu rapor edilmiştir (Pabst ve ark., 1995). Sigaranın içinde bulunan nikotinin lokal olarak damar daraltıcı etkisi ile beslenme yetersizliğine neden olarak dişetinde kan akımını azalttığı gösterilmiştir (Mavropoulos ve ark., 2003). Sigara ile periodontitis gelişimi arasındaki ilişkiyi gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmaya göre sigara içmeyenlerde içenlere göre daha çok kanama görülürken sigara içenlerde ataşman kaybı ve cep derinliği daha fazla bulunmuştur (Haffajee ve Socransky, 2001). Sigara kullanalarda zayıf oral hijyene bağlı olarak plak miktarının daha fazla olduğu ve ayrıca tükürük akış hızının artmasına ve tükürükteki kalsiyum fosfataz oranının artmasına bağlı olarak diştaşı birikiminin daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Shimazaki ve ark., 2006). Kemik cerrahisi ve flep operasyonu gibi cerrahi tedaviyi takiben sigara içenlerde, sigara içmeyenlere göre daha az KAK ve SCD azalma gözlemlendiği bildirilmiştir. Cerrahi işlemlerden sonra damarlanmayı bozarak ve büyüme faktörü üretimini baskılayarak iyileşmeyi geciktirdiği gösterilmiştir (Scabbia ve ark., 2001). Aynı zamanda furkasyon defektleri ve periodontal defektlerin yönlendirilmiş doku rejenerasyonu ile tedavisinde sigaranın operasyon başarısını azaltabileceği rapor edilmiştir (Silva ve ark., 2007). Yapılan bir retrospektif çalışmaya göre günde 10 adetten fazla sigara içen ile sigara

içmeyen, derin kemik içi defekte sahip olan hastalara teflon membran ile YDR uygulanmıştır. Bir yıllık takip sonucunda KAK günde 10 adetten fazla sigara içenlerde 2,1 mm iken; sigara içmeyenlerde 5,2 mm olarak bulunmuştur. Bu çalışmaya göre sigara YDR sonrası oluşan iyileşme sonuçlarını olumsuz etkilemektedir (Tonetti ve ark., 1995). Sigaranın rejeneratif tedavi üzerindeki olumsuz etkileri göz önüne alınarak çalışmamıza günde 10 adetten az sigara içen bireyler dahil edilmiştir.

Defekt derinliği, genişliği ve duvar sayısı gibi defekt morfolojisine ait faktörler rejeneratif tedaviden sonraki iyileşme üzerinde önemli rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada köpeklerde cerrahi olarak yaratılan kemik içi defektlerde defekt duvar sayısının iyileşmeye etkisi incelenmiştir. 6 köpeğin sağ ve sol alt çenesinde küçük azı dişlerinde 1, 2 ve 3 duvarlı kemik içi defektler oluşturulmuştur. Cerrahiden 8 hafta sonra defekt bölgelerinden kesitler alınarak histolojik ve histometrik analiz yapılmıştır. 1, 2 ve 3 duvarlı defektlerde bağlantı epiteli oluşumu sırasıyla; 1,5 mm, 1,2 mm ve 0,9 mm bulunmuş ve 3 duvarlı kemik defektleri 1 duvarlı defektlerinden anlamlı derecede farklı bulunmuştur. Sement rejenerasyonu sırasıyla; 1,2 mm, 2 mm ve 2,8 mm olarak bulunmuş ve bütün gruplar anlamlı derecede birbirinden farklı bulunmuştur. Kemik rejenerasyonu sırasıyla; 1,5 mm, 1,7 mm ve 2,3 mm olarak bulunmuş ve 3 duvarlı kemik defektleri 1 duvarlı kemik defektlerinden anlamlı derecede farklı bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına göre defekt duvar sayısı kemik içi defektlerde tedavi sonuçlarını etkilemektedir (Kim ve ark., 2004). Yapılan diğer bir çalışmada kemik içi defekte sahip olan hastalarda e-PTFE membran kullanılarak YDR uygulanmıştır. Cep derinliği 6 mm ya da daha fazla olan 23 hastada bulunan 1, 2 ve 3 duvarlı kemik defektleri cerrahiden 12 ay sonra değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre derin defektlerde sıg defektlere göre SCD azalma ve KAK daha fazla bulunmuştur. SCD'de azalma, KAK ve kemik kazancı 3 duvarlı, derin defektlerde diğer defektlere göre daha fazla bulunmuştur (Selvig ve ark., 1993). Yapılan başka bir çalışmada kemik içi defektlerde YDR uygulanan hastalarda başlangıç defekt açısının tedavi sonuçlarına etkisi araştırılmıştır. 166 hastada bulunan 3 mm ve üstü cep derinliği olan kemik içi defektlere MMP uygulanmış ve hastaların başlangıç defet açısı ölçülmüştür. 12 ay sonra değerlendirilmiş ve başlangıç defekt açısı 22° ve altı olan hastalarda KAK başlangıç defekt açısı 36° ve üstü olan hastalardan 2,46 kat daha fazla bulunmuştur. Bu çalışmaya göre başlangıç defekt açısı tedavi sonuçlarını etkilemektedir (Tsitoura ve ark., 2004).

Bu bilgiler ışığında çalışmamıza cerrahi işlem sırasında  $\geq 3\text{mm}$  (alveol kret ve defekt tabanı arası) derinliğinde ve 3 duvarlı kemik içi defekti olan dişler dahil edilmiştir.

Hastalarda kronik periodontitis oluşumundaki birincil etken mikrobiyal dental plak ve ürünleri olmaktadır. Hastaların etkin bir biçimde tedavi edilebilmeleri için ağızdaki tüm patojenlerin baskılanması ve hastanın plak kontrolünü idame edebilmesi gerekmektedir (Axelsson ve ark., 2004). Yapılan bir çalışmada ileri kronik periodontitis olan 24 hastaya başlangıç periodontal tedavisinin ardından plak kontrol yöntemleri anlatılmıştır. Daha sonra hastalara periodontal cerrahi işlem uygulanmış ve 12 hasta 2 haftada bir düzenli kontrollere çağırılarak profesyonel diş temizliği yapılmıştır. Diğer 12 hasta ise yılda 1 kez kontrole çağırılmıştır. İki yıllık takip süresi sonunda düzenli kontrollere gelen hastalarda bir miktar kemik kazancı gözlenirken, yılda 1 kez kontrole gelen hastaların periodontal dokularında yıkım görülmüştür. Bu çalışmaya göre düzenli plak kontrolleri periodontal tedavi sonuçlarını etkilemektedir (Rosling ve ark., 1976). Çalışmamıza katılan hastalara operasyon öncesi ve sonrasında ağız hijyen eğitimi verilmiştir. Tüm hastalar operasyon sonrası birinci hafta ve daha sonra her ay düzenli aralıklarla ağız hijyen kontrolü amacıyla çağırılmıştır. Hastalara cerrahi uygulanan bölgelere 1 ay süre ile diş ipi ve ara yüz fırçası kullanmamaları ve ilk 2 hafta yumuşak fırça kullanarak hafifçe fırçalamaları daha sonraki süreçte normal bir şekilde günde 2 kere fırçalamaları vurgulanmıştır. Hastalara 2. aya kadar her hafta, 3. aya kadar 15 günde bir ve takip süresinin sonuna kadar ayda bir olmak üzere profesyonel diş yüzeyi temizliği uygulanmıştır.

Çalışmaya dahil edilen hastaların mikrobiyal dental plak miktarını ölçmek için Silness-Löe PI kullanılmıştır (Silness and Löe, 1964). Çalışmamızda her 2 tedavi grubunda da 6. ayda operasyon bölgesinde yapılan ölçümlerde PI değerleri başlangıça göre ileri derecede anlamlı azalma göstermiştir ( $p<0,001$ ). Gruplar karşılaştırıldığında YDR uygulanan grupta daha fazla azalma görülmüştür. Yapılan bir çalışmada etkin plak kontrolünün subgingial mikrobitya etkisi araştırılmıştır. 300 hasta iki yıl boyunca takip edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre düzenli supragingival plak kontrolü sonucu derin ve sık ceplerde bulunan bakteri sayısının azaldığı tespit edilmiştir (Dahlen ve ark., 1992). Çalışmamızın sonucuna göre her 2 gruptaki hastaların ideal ağız hijyeni seviyesini koruduğu ve ağız hijyenindeki eksikliklere bağlı olarak gelişebilecek olumsuz etkilerin önüne geçildiğini söyleyebiliriz. Dişetinin marjinal bölgesindeki

enflamasyonu ölçmek için Loe Sillness GI kullanılmıştır (Loe and Sillness, 1963). Çalışmamızda her 2 tedavi grubunda da 6. ayda operasyon bölgesinde yapılan ölçümlerde GI değerleri başlangıca göre ileri derecede anlamlı azalma göstermiştir ( $p<0,001$ ). Gruplar karşılaştırıldığında YDR uygulanan grupta daha fazla azalma olduğu görülmüştür. PI değerleri ile benzer bulgular elde edilmesi etkin plak kontrolü ile gingival enflamasyonun engellediğini göstermektedir (Tabita ve ark., 1981). GI değerlerinin her iki grupta da anlamlı derecede azalması dişeti iltihabının klinik olarak operasyon sonrası operasyon öncesi seviyesinden daha iyi bir noktaya geldiğini göstermektedir. Çalışmamızda dişeti iltihabını ve kanamayı belirlemek amacıyla GI'ye ek olarak rejeneratif tedavi sonuçlarında enflamasyonun etkisini daha ayrıntılı tespit etmek amacıyla Mühleman-Son DOKI kullanıldı (Newbrun, 1996). Bu indeksle iltihabı gösteren kanama ve dişetinin kıvamı ve rengindeki değişikliklerde kaydedilmiştir. Çalışmamızda tüm hastalara başlangıç tedavi süresince diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesi işlemleri yapılarak dişeti iltihabı en az düzeye indirilmeye çalışıldı. Çalışmamızda her 2 tedavi grubunda da 6. ayda operasyon bölgesinde yapılan ölçümlerde DOKI değerleri başlangıca göre ileri derecede anlamlı azalma göstermiştir ( $p<0,001$ ). Gruplar karşılaştırıldığında YDR uygulanan grupta daha fazla azalma olduğu görülmüştür. PI ve GI değerleri ile benzer bulgular elde edilmesi her üç değer birbirini ile ilişkili olduğunu ve etkin plak kontrol yöntemleri ile enflamasyon ve kanamanın engellenebildiğini göstermektedir. YDR uygulanan grupta her üç indeks değerinin daha fazla azalması YDR uygulanan gruptaki hastaların daha iyi plak kontrolü sağladıklarını düşündürmektedir.

Rejeneratif tedavi sonuçlarının değerlendirilmesinde klinik değerlendirme, kemiğin doğrudan ölçülmesi, radyografi ve histolojik inceleme gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Klinik, radyografik ve kemiğin ikinci bir cerrahi işlem ile açılarak doğrudan ölçülmesi yöntemi rejenerasyon sonuçlarının değerlendirilmesinde yeterlidir. Fakat kemiğin ikinci bir cerrahi ile açılması sonucu gerçek rejenerasyonu gösteren kemik görülememektedir (Caton ve Greenstein, 1993). Rejenerasyonun tam olarak belirlenmesi histolojik inceleme ile sağlanabilmektedir. Yapılan bir çalışmada 1 ve 2 duvarlı kemik defekti bulunan kronik periodontitis hastalarında defekt bölgelerine MMP ve kalsiyum fosfat kemik grefti uygulanmış ve 9 ay sonra histolojik kesit alınarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre kollajen liflerin içine girdiği sement ve

yeni bağ dokusu ataşmanı oluşmuş ve 10 biyopsinin 3'ünde uzun epiteliyel ataşman oluşumu gözlenmiştir. 9 ayın sonunda kemik grefti partikülleri gözlenmiş ve sınırlı miktarda yeni kemik oluşmuştur. Bu çalışmaya göre histolojik inceleme ile periodontal rejenerasyon tam olarak gözlemlenebilmektedir. Fakat etik nedenlerden dolayı tercih edilmemektedir (Sculean ve ark., 2008b). Yapılan başka bir çalışmada kemik içi defekt bulunan hastalarda MMP ve bariyer membran uygulanmış ve 6 ay sonra klinik, radyografik ve histolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre YDR ve MMP uygulanan her iki grupta histolojik olarak yeni kemik ve sement oluşumu gözlenmiştir. Klinik, radyolojik ve histolojik olarak yeni oluşan kemik bakımından istatistiksel olarak fark bulunmamıştır (Windisch ve ark., 2002). Bizim çalışmamızda yumuşak ve sert doku ölçümleri yapılmıştır. Yumuşak doku parametreleri; SCD, DÇM ve KAS klinik olarak değerlendirilmiş, sert doku parametreleri; VKYD, DALD, DAÇD ve KYD radyografik olarak değerlendirilmiştir. Klinik değerlendirilmede periodontal sond ve bireysel akrilik stentler kullanılmıştır. Bu şekilde ölçümlerde standardizasyon sağlanabilmektedir (Clark ve ark., 1987).

SCD ve KAK rejeneratif tedavi sonuçlarındaki başarının önemli göstergelerindendir. Tedavi sonrası SCD'de azalma DÇM ve KAK'a bağlı olarak değişmektedir. Çalışmamızda 6. ayın sonunda elde edilen değerlere göre MMP+YDR uygulanan grupta; SCD değerinde tedavi sonrası tedavi öncesine göre oluşan azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). DÇM değeri tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri derecede anlamlı artmıştır ( $p<0,001$ ). KAS tedavi sonrası tedavi öncesine göre anlamlı derecede azalmıştır ( $p<0,05$ ). YDR uygulanan grupta; SCD ve KAS değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre anlamlı derecede azalmıştır ( $p<0,05$ ), DÇM değeri ise tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri derecede anlamlı artmıştır ( $p<0,001$ ). Gruplar karşılaştırıldığında SCD'de azalma MMP+YDR uygulanan grupta  $3,62\pm0,16$  mm; YDR uygulanan grupta  $3,66\pm0,22$  mm bulunmuştur. YDR uygulanan grupta SCD'de azalma YDR+MMP uygulanan gruba göre biraz daha fazla olsa da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Gruplar karşılaştırıldığında DÇM'de artış MMP+YDR uygulanan grupta  $0,52\pm0,13$ ; YDR uygulanan grupta  $0,48\pm0,34$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Gruplar karşılaştırıldığında KAK MMP+YDR uygulanan grupta  $3,34\pm1$  mm; YDR uygulanan grupta  $3,41\pm0,48$  mm bulunmuştur.

YDR uygulanan grupta KAK YDR+MMP uygulanan gruba göre biraz daha fazla olsa da gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Sonuçlar incelendiğinde SCD'deki azalmanın büyük oranda KAK ile gerçekleştiği görülmüştür. Bu sonuçlar kemik defektlerinin rejeneratif tedavisinde YDR'ye ek olarak MMP kullanılmasının etkili bir tedavi yöntemi olduğu hipotezimizi desteklemektedir. Bizim çalışmamızda tedavi sonrası SCD'de azalma gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmasa da çalışmamız sonunda fizyolojik anatomik sınırlar dahilinde hastanın temizleyebileceği uygun ortam sağlanmıştır. Çalışmamızda oluşan dişeti çekilmesi diğer çalışmalarla benzer bulunmuştur. Dişeti çekilmesi sonucu oluşan hassasiyet ve estetik problemlerin önüne geçmek için yumuşak doku en üst seviyede korunmaya çalışılmış ve sulkuler insizyonlar yapılmıştır. Yapılan diğer çalışmalar değerlendirildiğinde MMP ve YDR'nin karşılaştırıldığı 6 aylık bir çalışmada KAK; YDR uygulanan grupta 3,87 mm; MMP uygulanan grupta 2,67 mm bulunmuştur (Windisch ve ark., 2002). Sadece YDR uygulanan 1 yıllık çalışmalar değerlendirildiğinde KAK; 3,04 (Tonetti ve ark., 1998), 2,0 mm (Cortellini ve ark., 1998) ve 3 mm (Pontoriero ve ark., 1999) bulunmuştur. Bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında sadece YDR uygulanan grupta daha fazla KAK elde edilmiştir. Çalışmalarda ortaya çıkan KAK farklarının defekt tipi ve duvar sayısı ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda rejenerasyon potansiyeli yüksek olan 3 duvarlı kemik defektleri kullanılmıştır. Sadece MMP uygulanan ve 1 yılın sonunda değerlendirilen bir çalışmada KAK; 2,9 mm (Pontoriero ve ark., 1999) bulunmuştur. Bizim çalışmamızda MMP+YDR uygulanan grupta daha fazla KAK elde edilmiştir. Bunun nedeninin çalışmamızda MMP'ye ek olarak YDR'nin kullanılmasının etkisi olduğu düşünülmektedir.

Sculean ve ark. (2006) yaptıkları bir çalışmada çift taraflı kemik içi defekte sahip 10 hastaya MMP ve YDR uygulanmıştır. 8 yıllık takip sonrası SCD'de azalma MMP uygulanan grupta  $3,4\pm0,5$  mm ve YDR uygulanan grupta  $3,5\pm0,5$  mm olarak bulunmuştur. Her iki grupta da SCD'de istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. 8 yıllık takip sonrası KAK; MMP uygulanan grupta  $2,8\pm0,4$  mm, YDR uygulanan grupta  $1,9\pm0,1$  mm olarak bulunmuştur. MMP uygulanan grupta KAS'da istatistiksel olarak anlamlı artış görülmemiş, YDR uygulanan grupta KAS istatistiksel olarak anlamlı artmış ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. 8 yıllık takip sonrası DÇM'de

artış MMP uygulanan grupta  $0,6\pm0,4$  mm ve YDR uygulanan grupta  $0,7\pm0,5$  mm bulunmuştur. Her 2 grupta da DÇM’de istatistiksel olarak anlamlı artış görülmemiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda elde edilen SCD azalması, KAK bu çalışmada elde edilen değerlerden yüksek ve DÇM ise daha düşük bulunmuştur. Bu farkın çalışmamızda MMP ile membranın beraber kullanılmasının avantajlarına bağlı olduğuna düşünülmüştür. Ayrıca takip süresinin uzaması sonucu hastalardaki mikrobiyal dental plak kontrolü zayıflamakta ve idame kontrollerine gelme sıklığı azalmaktadır. Bunun sonucunda elde edilen yumuşak doku parametrelerinde kazanç azalmaktadır.

Sciliano ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada 1 duvarlı defekte sahip kronik periodontitis hastalarına, kemik grefti ile MMP ya da kemik grefti ile kollajen membran uygulanmıştır. 12 ay sonra klinik indeksler değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre SCD’de azalma MMP ve kemik grefti uygulanan grupta  $4,6\pm1,9$  mm ve kemik grefti ile kollajen membran uygulanan grupta  $4,4\pm1,7$  mm olarak bulunmuştur. Her iki grupta da SCD’de istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. KAK; MMP ve kemik grefti uygulanan grupta  $3,8\pm1,6$  mm, kemik grefti ile kollajen membran uygulanan grupta  $3,7\pm1,2$  mm olarak bulunmuştur. Her iki grupta da KAS’da istatistiksel olarak anlamlı kazanç görülmüş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. DÇM’de artış; MMP ve kemik grefti uygulanan grupta  $0,6\pm1$  mm ve kemik grefti ile kollajen membran uygulanan grupta  $0,7\pm0,9$  mm bulunmuştur. Her iki grupta da DÇM’de istatistiksel olarak anlamlı artış görülmemiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Çalışmamızda elde edilen SCD azalması, KAK ve DÇM bu çalışmada elde edilen değerlerden düşük bulunmuştur. Bu durum yapılan çalışmada MMP ve YDR’nin boşluk doldurucu özelliği olan kemik grefti ile desteklenmesine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Sanz ve ark. tarafından (2004) yapılan çok merkezli klinik çalışmada 75 kemik içi defekte sahip kronik periodontitis hastasına MMP ya da rezorbe olan membran kullanılarak YDR uygulanmıştır. 1 yılın sonucunda SCD’de azalma; MMP uygulanan grupta  $3,8\pm1,5$  mm ve YDR uygulanan grupta  $3,3\pm1,5$  mm olarak bulunmuştur. Her iki grupta da SCD’de istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. KAK; MMP uygulanan grupta  $3,1\pm1,8$

mm, YDR uygulanan grupta  $3,5\pm1,9$  mm olarak bulunmuştur. Her iki grupta da KAS'da istatistiksel olarak anlamlı kazanç görülmüş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. DÇM'de artış; MMP uygulanan grupta  $0,6\pm0,9$  mm ve YDR uygulanan grupta  $0,7\pm0,9$  mm bulunmuştur. Her iki grupta da DÇM'de istatistiksel olarak anlamlı artış görülmemiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu çalışmada, çalışmamızda kullanılan rejenerasyon materyalleri kullanılmıştır. Çalışmamızda elde edilen SCD azalması ve KAK bu çalışma ile benzer bulunmuştur. DÇM çalışmamızda daha az bulunmuştur. Bu sonuçlar da bizim çalışmamızda olduğu gibi rejeneratif tedavide MMP kullanımının kullanılmamasına göre daha etkili bir tedavi yöntemi olduğu hipotezimizi desteklememektedir.

Rejeneratif periodontal tedaviyi takiben oluşan sert doku değişikliklerinin değerlendirilmesinde radyografik inceleme önemli olmaktadır. Bizim çalışmamızda başlangıçta ve 6. ayda kişiye özel hazırlanmış akrilik ısırtma plağı ile paralel film tekniği kullanılarak dijital periapikal radyografiler alınmıştır. Elde edilen radyografiler üzerinden Image J programı kullanılarak VKYD, DALD ve DAÇD başlangıç ve 6. ayda hesaplanmıştır. MMP+YDR uygulanan grupta VKYD, DALD değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri derecede anlamlı azalmıştır ( $p<0,001$ ). DAÇD değeri tedavi sonrası tedavi öncesine göre anlamlı derecede artmıştır ( $p<0,05$ ). YDR uygulanan grupta VKYD, DALD değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri derecede anlamlı azalmıştır ( $p<0,001$ ). DAÇD değeri tedavi sonrası tedavi öncesine göre anlamlı derecede artmıştır ( $p<0,05$ ). Gruplar karşılaştırıldığında başlangıç ve 6. ay arasındaki fark VKYD MMP+YDR uygulanan grupta ortalama  $0,92\pm0,09$  mm; YDR uygulanan grupta  $1,11\pm0,21$  mm olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi sonrası VKYD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ). DALD; MMP+YDR uygulanan grupta ortalama  $1,03\pm0,11$  mm<sup>2</sup> YDR uygulanan grupta  $1,22\pm0,4$  mm<sup>2</sup> olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi sonrası DALD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ). DAÇD; MMP+YDR uygulanan grupta ortalama  $15,69\pm1,54^\circ$  YDR uygulanan grupta  $15,16\pm2,86^\circ$  olarak kaydedilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında tedavi sonrası DAÇD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ).

Falk ve ark. (1997) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defekte sahip hastalarda rezorbe olabilen membran ile YDR uygulanmıştır. 1 yılın sonunda radyografik kemik dolumu incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre başlangıç ve 1. yılda elde edilen VKYD arasındaki fark  $3,2\pm1,9$  mm olarak bulunmuştur. VKYD değeri tedavi sonrası tedavi öncesine göre anlamlı derecede azalmıştır. Bizim çalışmamızda YDR uygulanan grupta başlangıç ve 6. ay VKYD değerleri arasındaki fark  $1,11\pm0,21$  mm olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda VKYD değerindeki azalmanın nedeninin kemik dolumu ve bir miktar krestal kemik rezopsiyonu olduğu düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda elde edilen VKYD azalmanın bu çalışmaya göre az olmasının nedeni yapılan çalışmada başlangıçta elde edilen VKYD'nin daha fazla olması ve bizim çalışmamızın süresinin daha kısa olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Windisch ve ark. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defekte sahip hastalarda MMP ve YDR uygulanmış ve 6 ay sonra tedavi sonuçları klinik, histolojik ve radyografik olarak karşılaştırılmıştır. Radyolojik olarak mine sement sınırından defekt tabanına VKYD başlangıçta ve 6. ay ölçülmüştür. YDR uygulanan grupta VKYD 0,47 mm, MMP uygulanan grupta ise 1,05 mm olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda elde edilen VKYD'de oluşan azalma daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeninin bu çalışmada ileri kemik yıkımı görülen dişlerde ve defekt duvar sayısına bakılmadan yapılmış olması ve bizim çalışmamızda rejenerasyon potansiyeli yüksek 3 duvarlı kemik defektine sahip dişler seçilmesine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Rösing ve ark. (2005) tarafından kemik içi defekte sahip hastalarda 1 yılın sonunda MMP'nin etkisi plasebo kontrol ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. VKYD; MMP uygulanan grupta 1,55 mm, plasebo uygulanan grupta ise 1,39 mm olarak bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına göre MMP kemik içi defektlerde ek bir yarar sağlamamaktadır. Elde edilen sonuç bizim çalışmamızla uyumlu bulunmuştur.

Klein ve ark. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defekte sahip hastalara YDR uygulanmış, 6. ay ve 24. ay DAÇD değerlendirilmiştir. Başlangıç defekt açısı  $31,33^\circ$  olan defektlerde YDR uygulanmasından 6 ay sonra  $12,81^\circ$ lik açı artışı, 24 ay sonra  $15,59^\circ$ lik açı artışı elde edilmiştir. Bizim çalışmamızda DAÇD 6. ayda daha fazla bulunmuştur. Bunun nedeninin başlangıç DAÇD'nin fazla olması ve sadece 3 duvarlı defektlerin seçilmesine bağlı olduğu düşünülmüştür.

Tsitoura ve ark. (2004) tarafından kemik içi defekte sahip olan hastalarda MMP uygulanmış ve defekt açısının periodontal rejeneratif tedavi sonuçlarına etkisi araştırılmıştır. DAÇD  $\leq 22^\circ$  olan defektlerde KAK  $>3$  mm olarak bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına göre başlangıç defekt açısı rejeneratif tedavi sonuçlarını etkilemektedir. Bu çalışmaya göre dar defektlerde MMP ile rejeneratif tedavi sonucunda KAK  $\geq 4$  mm elde edilmektedir. Diğer çalışmalarda da dar açılıya sahip ( $<22^\circ$ ) kemik içi defektlerde KAK'ın geniş açılı defektlere ( $\geq 37^\circ$ ) kıyasla daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Klein ve ark., 2001; İlgenli ve ark., 2007). Bizim çalışmamızda geniş açılı defektler kullanılmıştır. Buna bağlı olarak her iki grupta KAK  $<4$  mm olarak bulunduğu düşünülmektedir.

Kemik defektlerinin görüntülenmesinde periapikal radyografler ile beraber CBCT'de kullanılabilir. Yapılan çalışmalarda kemik içi defektlerinde periapikal radyografler ile CBCT karşılaştırılmış ve çalışmanın sonuçlarına göre defekt morfolojisini tanımlamada her iki yöntem sonuçları benzer bulunmuş fakat defektin 3 boyutlu görüntülenmesinde CBCT daha başarılı bulunmuştur (Vasconcelos ve ark., 2012; Misch ve ark., 2006). Bizim çalışmamızda hastalardan alınan CBCT üzerinde Haunsfield unit değeri ölçüldü. Başlangıçta ve 6. ayda KYD değerleri belirlendi. MMP+YDR uygulanan grupta KYD değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri derecede anlamlı artmıştır ( $p<0,001$ ), YDR uygulanan grupta da KYD değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre ileri derecede anlamlı artmıştır ( $p<0,001$ ). Gruplar karşılaştırıldığında KYD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ). MMP+YDR uygulanan grupta elde edilen KYD daha fazla bulunmuştur. Bunun nedeninin MMP'nin hücresel düzeyde yeni kemik ve sement oluşumunu indüklenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalarda rejenerasyonu sağlamak amacıyla birçok materyal kullanılmıştır. YDR tekniğinde kullanılan bariyer membran ile epitel ve bağ dokusu hücrelerinin operasyon bölgesinden uzak tutularak rejenerasyon yeteneği olan periodontal ligament hücrelerinin kök yüzeyine ulaşması sağlanmaktadır. Kemik içi defektlerde YDR'nin boşluk koruyucu özelliğinden yararlanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda YDR tek başına ve çeşitli materyallerle beraber kullanılmaktadır.

Singh ve ark. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defektlerin tedavisinde hidroksiapatit kemik grefti ile rezorbe olan kollajen membran beraber

kullanılmış ve açık flep debridmanı ile karşılaştırılmıştır. 14 hastada toplam 18 kemik içi defekt çalışmaya dâhil edilmiş ve 6. ayda PI, GI, SCD, KAK, DÇM ve radyografik defekt dolumu açısından karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre kollajen membranla beraber kullanılan kemik grefti uygulanması sonucu açık flep debridmanına göre daha iyi klinik sonuçlar elde edilmiştir.

Stavropoulos ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defektlerin tedavisinde granüler kemik materyali ile sığır perikardiyumundan yapılan kollajen membran kullanılmıştır. Sonuçlar klinik ve histolojik olarak değerlendirilmiştir. 1 ve 2 duvarlı 30 kemik içi defekt kollajen membranla beraber kemik grefti ile tedavi edilmiştir. 3 yıllık klinik takip sonucu KAK ve SCD açısından anlamlı klinik sonuçlar elde edilmiş ve 6. ayda histolojik olarak yeni kemik oluşumu görülmeden yeni sement ve periodontal ligament rejenerasyonu görülmüştür.

Budhiraja ve ark. (2012) tarafından kemik içi defektlerde kemik grefti ile kalsiyum sülfat bariyer veya kollajen membran kullanılmış ve 6. ayda klinik olarak değerlendirilmiştir. 3 duvarlı kemik içi defekte sahip 20 hasta çalışmaya dâhil edilmiş ve 6. ayda PI, GI, SCD, KAK ve DÇM açısından değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre elde edilen klinik sonuçlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu çalışmaya göre kalsiyum sülfat bariyer membran ile rejeneratif tedavide kollajen membranla benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kalsiyum sülfat bariyer membran daha ekonomik bir alternatif olarak kullanılabilir.

Keleş ve ark. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defektlerde YDR'nin otojen kortikal kemik greftine ek bir yarar sağlayıp sağlamadığı değerlendirilmiştir. Kronik periodontitis teşhisi konulan 12 hastada var olan defektlerin bir kısmı otojen kemik grefti ve rezorbe olabilen membran ile geriye kalan defektler ise sadece otojen kemik grefti ile tedavi edilmiştir. 6. ayın sonunda KAK, SCD ve radyografik kemik kazancı yönünden değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuca göre her iki grupta anlamlı klinik ve radyografik sonuçlar elde edilmiş fakat gruplar arasında anlamlı fark elde edilmemiştir. Bu çalışmaya göre rejeneratif tedavide rezorbe olan bariyer membran kemik greftine ek bir yarar sağlamamaktadır.

Trombelli ve ark. (2010) tarafından kemik içi defektlerin rejeneratif tedavisinde sadece bukkal ya da oral yüzeyden açılan minimal invaziv flep tasarımına ek olarak YDR ve hidroksiapatit kemik greftinin etkinliği sadece minimal invaziv flep tasarımı ile

karşılaştırılmıştır. 24 kemik içi defekt tedavi edilmiştir ve 6. ayda klinik açıdan değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre klinik veriler açısından her iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Bu çalışmaya göre minimal invaziv flep tasarımına ek olarak uygulanan YDR ve kemik grefti ek bir yarar sağlamamaktadır.

Camargo ve ark. (2009) tarafından kemik içi defektlerde TZP'nin sığır kemik mineraline ek olarak uygulanan YDR'ye etkisi araştırılmıştır. 23 kemik içi defektin bir kısmı TZP, kemik grefti ve YDR ile tedavi edilmiş, geriye kalan defektler ise sadece kemik grefti ve YDR ile tedavi edilmiştir. 6. ayın sonunda ikinci bir operasyon ile bölge tekrar açılarak SCD, KAK ve defekt dolumu değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre her iki grupta da anlamlı klinik sonuçlar elde edilmiş fakat gruplar arasında fark bulunmamıştır. Bu çalışmaya göre TZP kemik grefti ve YDR'ye ek bir yarar sağlamamaktadır.

Chen ve ark. (1995) tarafından kemik içi defektlerde YDR'ye ek olarak uygulanan kemik greftinin etkinliği değerlendirilmiştir. 6. ayda elde edilen sonuçlara göre YDR'ye ek olarak uygulanan kemik grefti ek bir yarar sağlamamaktadır.

Yapılan çalışmalara bakıldığında YDR uygulanması sonucunda yüksek başarı oranları elde edilmektedir (Pontoriero ve ark., 1999). Fakat YDR'nin membran uygulanması sırasında yaşanan zaman kaybı, hassas çalışma gerekliliği, membranın adapte edilmesi ve flebin kapanması sırasında yaşanan zorluk, membranın açığa çıkması ve rezorbe olmayan membranlarda bunlara ilave olarak ikinci cerrahi gerekliliği gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır (Silvestri ve ark., 2000). Bu durumların rejeneratif tedavi sonuçlarına etkisini azaltmak amacıyla rejeneratif potansiyeli olan MMP YDR'ye ek olarak çalışmamızda kullanılmıştır. MMP çalışmalarda çeşitli rejeneratif materyallerle beraber kullanılmaktadır.

Okuda ve ark. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defektlerde MMP'nin etkisi değerlendirilmiştir. 16 hastada var olan kemik içi defektlerin bir kısmı sadece MMP ile geriye kalan kısmı çift kör bir çalışma ile plasebo olarak tedavi edilmiştir. Hastalar 12 ay sonra klinik ve radyolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP uygulanan grupta SCD'de azalma, KAK, sondlamada kanama ve radyografik kemik densitesi anlamlı derecede fazla bulunmuştur. Bu çalışmaya göre MMP kemik içi defektlerinin rejeneratif tedavisinde etkili bir yöntemdir.

Silvestri ve ark. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defektlerde YDR, flep ve MMP'nin etkinliği karşılaştırılmıştır. 30 defekt 2 gruba ayrılmış, 10 defekt e-PTFE ile, diğer 10 defekt MMP ve geriye kalan 10 defekte ise sadece flep uygulanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP ve YDR uygulanan gruplarda anlamlı klinik sonuçlar elde edilmiş fakat sadece flep uygulanan grupta anlamlı klinik sonuçlar elde edilmemiştir. YDR ve MMP uygulanan gruplar arası anlamlı fark tespit edilmemiştir. Bu çalışmaya göre YDR ve MMP kemik içi defektlerin tedavisinde kullanılan etkili rejeneratif yöntemler olmaktadır.

Tonetti ve ark. (2002) tarafından kemik içi defekte sahip hastalarda MMP'nin etkisi araştırılmıştır. 172 hastada var olan kemik içi defekt bölgelerinin bir kısmına papil korumalı flep ile beraber MMP uygulanmış, diğer defekt bölgelerine ise sadece papil korumalı flep uygulanmıştır. 12 ay sonra KAK, SCD'de azalma, DÇM, PI ve kanama indeksi karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP uygulanan grupta daha iyi klinik sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmaya göre MMP kemik içi defektlerin tedavisinde etkili bir yöntem olmaktadır.

Zucchelli ve ark. (2003) tarafında yapılan bir çalışmada kemik içi defekte sahip hastalarada MMP'ye ek olarak uygulanan sığır kemik mineralinin etkisi değerlendirilmiştir. 60 kemik içi defekt bölgesine MMP uygulanmış ve defetlerden 30 tanesi MMP'ye ek olarak sığır kemik minerali ile doldurulmuş, 12 ay sonra klinik açıdan değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuca göre her iki tedavi grubunda da anlamlı klinik sonuçlar elde edilmiş fakat kemik greftinin uygulandığı grupta sadece MMP uygulanan gruba göre daha iyi klinik sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmaya göre rejeneratif periodontal tedavide MMP'ye ek olarak uygulanan kemik grefti kemik içi defektlerde etkili bir yöntem olmaktadır.

Francetti ve ark. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defektlerde MMP'nin rejeneratif etkisi değerlendirilmiştir. 24 hastada var olan 24 defektin 12 tanesine açık flep debridmanı ve ek olarak MMP, diğer 12 defekte sadece açık flep debridmanı uygulanmıştır. 24 aylık takip sonucunda klinik veriler değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuca göre her iki grupta da tedavi sonunda başlangıca göre daha iyi klinik bulgular elde edilmiş ve MMP uygulanan grupta daha iyi klinik sonuçlar elde edilmiştir.

Bu çalışmaya göre açık flep debridmanına ek olarak uygulanan MMP kemik içi defektlerde etkili bir rejeneratif materyal olmaktadır.

Guida ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defektlerde MMP'ye ek olarak kullanılan otojen kortikal kemik partiküllerinin etkisi değerlendirilmiştir. 27 hastada bulunan 28 kemik içi defektin 14'ü sadece MMP, diğer 14'ü ise MMP ve otojen kortikal kemik partikülleri ile tedavi edilmiştir. 12 ay sonra klinik ve radyografik olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuca göre her iki grupta da başlangıca göre daha iyi sonuçlar elde edilmiş ve gruplar arasında klinik ve radyografik veriler açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Sadece MMP ve kemik grefti uygulanan grupta daha az dişeti çekilmesi görülmüştür. Bu çalışmaya göre kemik greftinin MMP'ye ek olarak kullanılması sonucu dişeti seviyesinin korunmasına destek olduğu bunun dışında ek bir klinik yarar sağlamadığı bulunmuştur.

Meyle ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defektlerde MMP'ye ek olarak uygulanan sentetik kemik greftinin etkinliği değerlendirilmiştir. 73 hastada bulunan geniş ve derin, 1 ve 2 duvarlı kemik defetlerinin bir kısmı sadece MMP, diğer defektler MMP ve sentetik kemik grefti ile tedavi edilmiştir. 12 ayın sonunda klinik ve radyografik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre başlangıca göre her iki grupta da anlamlı klinik sonuçlar elde edilmiş fakat gruplar arasında anlamlı fark elde edilmemiştir. Bu çalışmaya göre MMP'ye ek olarak uygulanan kemik grefti ek bir yarar sağlamamaktadır.

Yılmaz ve ark. (2010) tarafından kemik içi defektlerin tedavisinde MMP'ye ek olarak uygulanan otojen kemik greftinin etkinliği değerlendirilmiştir. 40 hastada bulunan 40 defektin 20'si MMP, diğer 20'si MMP ve otojen kemik grefti ile tedavi edilmiştir. 12 ay sonra elde edilen verilere göre her 2 grupta da başlangıca göre anlamlı klinik sonuçlar elde edilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında MMP ve ototojen kemik grefti uygulanan grupta daha anlamlı klinik sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmaya göre MMP'ye ek olarak uygulanan kemik grefti ile kemik içi defektlerin tedavisinde ek yarar sağlamaktadır.

Sculean ve ark. (2008a) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defektlerde MMP ve YDR'nin etkinliği değerlendirilmiştir. 56 hastada bulunan defektlere sadece

MMP, sadece YDR, MMP ve YDR, açık flep debridmanı uygulanarak 4 gruba ayrılmıştır. Tedavinin sonuçları 1. yıl ve 10. yıl KAK açısından değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre tüm gruplarda başlangıca göre 1. yıl ve 10. yıl anlamlı KAK elde edilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında açık flep debridmanına göre diğer 3 grupta daha anlamlı KAK elde edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre bütün tedavi gruplarında elde edilen KAK uzun dönem korunabilmektedir.

Sciliano ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defekt içermeyen çoğunluğu 1 duvarlı defektlerde MMP ve YDR'nin etkinliği değerlendirilmiştir. 40 hastada bulunan derin, çoğunluğu 1 duvarlı olan 40 defekt MMP ya da YDR ile tedavi edilmiştir. 12 ay sonra klinik parametreler değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre YDR uygulanan grupta MMP uygulanan gruba göre daha fazla KAK ve SCD'de azalma bulunmuştur. Bu çalışmaya göre derin ve kemik içi olmayan 1 duvarlı defektlerde YDR'nin MMP'ye göre daha etkili bir rejeneratif yöntem olduğu anlaşılmaktadır.

Crea ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada kemik içi defektlerde MMP ile rezorbe olmayan membran kullanılarak yapılan YDR tekniği karşılaştırılmıştır. 39 hastada bulunan, defekt derinliği  $\geq 4$  mm olan 3 duvarlı defektler YDR ya da MMP ile tedavi edilmiştir. 12. ay ve 36. ay klinik ve radyografik sonuçlar değerlendirilmiştir. Her 2 tedavi grubunda da başlangıca göre anlamlı kemik kazancı elde edilmiştir. İki grup karşılaştırıldığında MMP ile tedavi edilen hastalarda daha iyi sonuçlar elde edildiği ancak aradaki farkın anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmaya göre 3 duvarlı kemik içi defektlerde MMP ile YDR'ye göre daha başarılı klinik sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre SCD, KAK ve DÇM olan yumuşak doku parametrelerinde ve VKYD, DAÇD, DALD ve KYD olan radyografik sert doku parametrelerinde MMP+YDR ve YDR uygulanan 2 grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır. Çalışmamızın sonucuna göre 3 duvarlı kemik içi defektlerde YDR'ye ek olarak uygulanan MMP rejeneratif tedavide klinik ve radyolojik olarak ek bir yarar sağlamamaktadır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde kemik içi defektlerde MMP açık flep debridmanı ile karşılaştırıldığında daha başarılı klinik ve radyolojik sonuçlar elde edilmiştir (Tonetti ve ark., 2002; Francetti ve ark., 2004). Fakat kemik defektlerinin MMP'nin diğer rejeneratif tedavilerle beraber kullanılması sonucu yapılan

Çalışmalarda farklılıklar bulunmaktadır. Bunun nedeni çalışmalarda hasta ve defekt seçiminin farklı olması olabilir. Buna ek olarak derin, 1 ve 2 duvarlı defektlerde jel kıvamında olan MMP yapısındaki materyaller nedeniyle flep stabil kalmamakta ve içeri doğru kebilmektedir. Bu nedenle rejeneratif tedavide bölgenin anatomik özelliklerine uygun rejeneratif materyal seçilmesi gerekmektedir. MMP'nin uygulanan defektlerde flebin stabil kalmamasından dolayı defekt bölgesinde MMP'ye destek sağlayabilecek bariyer membran ve kemik grefti gibi rejeneratif materyallerin kullanılması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda derin, 1 ve 2 duvarlı defektlerde MMP'ye ek olarak kemik grefti uygulanması sonucu rejeneratif tedavilerde ek bir yarar sağladığı rapor edilmiştir (Siciliano ve ark., 2011). Bizim alışmamızda flebin stabil kalabilmesini sağlamak ve boşluk koruyucu özelliğinden dolayı bariyer membran kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda hasta seçimi, defekt karakteristiği, cerrahi yöntem ve idame fazı rejeneratif materyalinin başarısını etkilmektedir. Defekt etrafındaki yumuşak dokunun korunabilmesi için uygun flep tasarımı ve sütur tekniği uygulanarak flebin primer kapatılması gerekmektedir. Flebin primer olarak kapatılması sonucu cerrahi sonrası oluşan enfeksiyon ve kan pıhtısının ve rejeneratif materyalin kontaminasyonu engellemektedir (Guida ve ark., 2007). Cerrahi operasyon sonrası yumuşak doku iyileşme komplikasyonları, bakteriyel enfeksiyon, uygulanan bariyer membranın açığa çıkararak enfekte olması ve flebin aılması ve çökmesi gibi komplikasyonlar görülebilmektedir. Yapılan bir çalışmaya göre kemik içi defektlerde rezorbe olan membranın açığa çıkması operasyondan 1 hafta sonra % 35, 3 hafta sonra % 62 ve 6 hafta sonra % 29 olarak bulunmuştur (Sanz ve ark., 2004). Bizim alışmamızda membranın açığa çıkmasından veya flebin aılmasından kaynaklanan bir komplikasyon görülmemiştir. Bunun nedeninin flebin yeteri kadar serbestleştirilerek primer kapatılması, membranın uygun şekilde yerleştirilmiş olması, hastalar tarafından uygulanan etkili plak kontrolü ve sigara içen hastaların çalışma dışı bırakılmasından olduğu düşünülmektedir.

Rejeneratif periodontal tedavi sonuçlarının doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi için operasyon sonrası belli bir süre beklenmesi gerekmektedir. Gerçek rejenerasyonun belirlenebilmesi için kullanılan histolojik çalışmalarda gereken sürenin 6 ay olduğu rapor edilmiştir (Cortellini ve Tonetti, 2000). Yeni ataşman ve kemik oluşumu için gereken süre 6 ile 12 ay arası olarak belirlenmiştir (Francis ve ark.,

1995; Rummelhart ve ark., 1989). İlgili literatürler incelendiğinde MMP ve YDR uygulanan çalışmalarda beklenen sürenin 6 ile 12 ay arasında olduğu görülmüştür (Guida ve ark., 2007; Yılmaz ve ark., 2010; Meyle ve ark., 2011; Siciliano ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda kollajen bariyer membranın ve Emdogain'in çabuk rezorbe olabilen materyaller olmasından dolayı 6 ay çalışma süresi olarak karar verilmiştir.

MMP'nin hücresel düzeyde oluşturduğu biyolojik etkiyi anlayabilmek için periodontal ligamanet fibroblastlarının canlılığı ve proliferasyon oranı değerlendirilmektedir. Davenport ve ark. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada farklı dozlarda uygulanan MMP'nin 1., 3., 5., 7. ve 10. günlerde PDLF'nin canlılığı ve proliferasyon oranına etkisi değerlendirilmiştir. MMP 25 mg/ml, 50 mg/ml, 75 mg/ml ve 100 mg/ml olmak üzere 4 farklı dozda uygulanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre 25 mg/ml ve 50 mg/ml'de hücre canlılığı artmış fakat 75 mg/ml ve 100 mg/ml'de 5,7 ve 10. günlerde hücre canlılığı azalmıştır. Bu çalışmaya göre 50 mg/ml MMP hücre canlılığı için eşik değer olmaktadır ve 75 mg/ml ve üzerindeki MMP konsantrasyonunda ve gün sayısının artması ile beraber hücreler üzerinde sitotoksik etki oluşmaktadır. Çalışmanın sonuçlarına göre proliferasyon oranı ise günler ve MMP dozu arttıkça artmaktadır fakat farklı dozlar ve farklı günler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Gestrelus ve ark. (1997) tarafından yapılan bir çalışmada ise MMP'nin doza ve zamana bağlı olarak PDLF'nin proliferasyonunu arttırdığı rapor edilmiştir.

Rodrigues ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada MMP ve TGF- $\beta$ 1'in PDLF üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuca göre MMP'nin 4., 7. ve 10. günlerde PDLF'nin proliferasyonunu arttırdığı, TGF- $\beta$ 1'in proliferasyon üzerinde etkisi olmadığı bulunmuştur.

Catteneo ve ark. (2003) tarafından 3. ve 8. günlerde MMP'nin PDLF'nin proliferasyonunu arttırdığı bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda MMP'nin PDLF hücre canlılığı ve proliferasyonu üzerine etkisi; dört gün boyunca, dört farklı MMP derişiminde ve 3 farklı bireyden elde edilen periodontal ligament hücreleri üzerinde değerlendirilmiştir. Hücre canlılığı üzerine

etkisi karşılaştırıldığında; birinci gün üç dişten elde edilen hücre sayılarının 25 mg/ml ve 50 mg/ml MMP derişiminde düzenli arttığı fakat 100 mg/ml ve 200 mg/ml konsantrasyonlarda bu artışın durduğu ve azaldığı görölmüş ama farklı konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). İkinci gün üç dişten elde edilen hücre sayılarının 25 mg/ml MMP derişiminde arttığı fakat 50 mg/ml, 100 mg/ml ve 200 mg/ml derişimlerinde giderek azaldığı görölmüş ama farklı derişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Üçüncü gün üç dişten elde edilen hücre sayılarının farklı MMP derişimlerinde giderek arttığı görölmüş ama farklı derişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Dördüncü gün üç dişten elde edilen hücre sayılarının 25 mg/ml, 50 mg/ml ve 200 mg/ml derişimlerinde giderek arttığı, 100 mg/ml MMP derişiminde ise azaldığı görölmüştür. Dördüncü gün 25 µg/ml MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuş ( $p<0,05$ ); 50 µg/ml, 100 µg/ml ve 200 µg/ml MMP derişimlerinde ise üç dişten elde edilen hücre sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Hücre proliferasyon yüzdeleri karşılaştırıldığında; birinci gün, birinci dişte MMP derişimi arttıkça proliferasyon yüzdesinin azaldığı, ikinci ve üçüncü dişte MMP derişimi arttıkça proliferasyon yüzdesinin arttığı görölmüştür. Birinci gün 25 µg/ml MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) Birinci gün 50 µg/ml MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ) fakat 100 µg/ml ve 200 µg/ml MMP derişimlerinde, üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). İkinci gün üç dişten elde edilen proliferasyon yüzdesinin MMP derişimi arttıkça azaldığı görölmüştür. İkinci gün 4 farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Üçüncü gün üç dişten elde edilen proliferasyon yüzdesinin MMP derişimi arttıkça arttığı görölmüştür. Üçüncü gün 4 farklı MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Dördüncü gün üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdesinin 25 mg/ml, 50 mg/ml ve 200 mg/ml derişimlerinde giderek arttığı, 100 mg/ml MMP derişiminde ise azaldığı görölmüştür. Dördüncü gün 25 µg/ml MMP derişiminde üç dişten elde edilen hücre proliferasyon yüzdeleri arasında

istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuş ( $p<0,05$ ) ve 50 µg/ml, 100 µg/ml ve 200 µg/ml MMP derişimlerinde, üç dişten elde edilen hücre sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Bizim çalışmamızda yapılan çalışmalarla uyumlu olarak MMP PDLF hücrelerinin canlılığını ve proliferasyonunu arttırmaktadır. Farklı dişlerde elde edilen değerlerin birbirinden farklı olduğu ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı görülmüştür. Birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü günlerde farklı MMP derişimlerinde muhtemelen çoğalmayı baskılayıcı etki oluşarak hücre sayıları azalmıştır. Bunun sonucunda 25 mg/ml MMP derişiminin PDLF hücreleri üzerinde baskı oluşturmayacak ideal derişim olduğu düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalarda MMP'nin osteoblastik hücre çoğalmasını ve farklılaşmasının arttırdığı bildirilmiştir (Schwartz ve ark., 2000). Yapılan *in vitro* çalışmalara göre MMP periodontal ligament hücrelerinin çoğalmasını, protein ve kollajen üretimini ve bunun yanı sıra mineralizasyonunu arttırmaktadır (Gestrelus ve ark., 1997). MMP'nin hücre çoğalması ve farklılaşması ve matriks sentezini tetikleyici bir faktör olduğu rapor edilmiştir (Haase ve Bartold, 2001). He ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada MMP'nin osteoblastik hücrelerde osteojenik indüksiyonu arttırdığı bulunmuştur (He ve ark., 2004). Shimizu ve ark. tarafından amelogeninin osteoblast benzeri hücrelerde osteoblast ve sementoblast işaretçilerinden biri olan kemik sialoprotein seviyesi üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP yapısında bulunan amelogenin kemik sialoprotein seviyesini arttırmaktadır (Shimizu ve ark., 2005). Pitaru ve ark. tarafından periodontal ligament fibroblastlarının kök sementindeki osteokalsin, osteopontin, kemik sialoprotein ve fibronektin gibi kollajen olmayan bileşikler ve kollajen özellikteki sement bağlayıcı protein gibi moleküller ile etkileşim halinde olduğu gösterilmiştir (Pitaru ve ark., 1995). Sement yapısındaki bu bileşiklerin periodontal ligament hücrelerindeki mineralize doku oluşturan hücreler ile iletişim halinde olduğu ve osteojenik indüksiyonu ile mineralize doku oluşumunu arttırdığı bildirilmiştir (Liu ve ark., 1997). Hatter ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada fare pre-osteoblastik hücrelerinde MMP'nin farklılaşmaya etkisi değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada MMP'nin osteokalsin ve kemik sialoprotein üretimini arttırdığı bulunmuştur (Hattar ve ark., 2004). Bizim çalışmamızda MMP'nin periodontal ligament fibroblast hücrelerinde osteojenik farklılaşmaya etkisi araştırılmıştır. 3 haftalık MMP uygulanması ardından osteojenik işaretçilerden

osteokalsin ve kemik sialoprotein seviyesi belirlenmiştir. Kemik sialoprotein seviyesi dört farklı MMP derişiminde ve 3 farklı dişte değerdendirilmiştir. En yüksek kemik sialoprotein seviyesi 1. ve 3. dişte 100 µg/ml MMP derişiminde, 2. dişte ise 50 µg/ml MMP derişiminde elde edilmiştir. Dört farklı MMP derişiminde, üç diştten elde edilen kemik sialoprotein seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). Osteokalsin seviyesi dört farklı MMP derişiminde ve 3 farklı dişte değerdendirilmiştir. En yüksek osteokalsin seviyesi 1. ve 2. dişte 100 µg/ml MMP derişiminde, 3. dişte ise 50 µg/ml MMP derişiminde elde edilmiştir. 100 µg/ml MMP derişimi ve 200 µg/ml MMP derişimlerinde, üç diştten elde edilen osteokalsin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). 25 µg/ml MMP derişiminde ve 50 µg/ml MMP derişiminde, üç farklı diştten elde edilen osteokalsin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Bu sonuçlar MMP'nin hücreseel düzeyde osteojenik işaretçileri olan kemik sialoprotein ve osteokalsin seviyesini arttırdığı hipotezimizi desteklemektedir.

Rodrigues ve ark. (2007) tarafından MMP'nin 3 haftalık süreç sonunda periodontal ligament fibroblast hücrelerinde Alizerin Kırmızısı boyası kullanılarak osteogeneze bağılı mineralizasyona etkisi incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre MMP mineralizasyon odaklarını arttırmaktadır. Gestrelus ve ark. (1997) tarafından MMP'nin 3 haftalık süreç sonunda periodontal ligament fibroblast hücrelerinde von Kossa boyası ile mineralizasyona etkisi incelenmiştir. Çalışmaya göre MMP mineralize odakların sayısını arttırmaktadır. Bizim çalışmamızda alizarin boyaması ile 3 ve 4 haftalık osteogeneze sonunda MMP'nin etkisi ile oluşan *in vitro* osteogeneze bağılı mineralizasyon odakları incelenmiştir. Mineralizasyon düzeyi, invert ışık mikroskobunda her örnekten rastgele seçilen 5 alanda olmak üzere, ortalama değerdelerde mineralizasyon düzeyleri incelenerek yaklaşık değerd elde edilmiştir. Sadece hücre kültür vasatı içeren kuyucukların mineralizasyon yüzdesi 3 haftada % 5, 4 haftada % 10; sadece MMP deneysel grubunu içeren kuyucukların mineralizasyon yüzdesi 3 haftada % 10, 4 haftada % 15; sadece osteojenik indüksiyon deneysel grubunu içeren kuyucukların mineralizasyon yüzdesi 3 haftada % 15, 4 haftada % 20; osteojenik indüksiyon+MMP deneysel grubunu içeren kuyucukların mineralizasyon yüzdesi 3 haftada % 20, 4 haftada % 25 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar MMP'nin hücreseel düzeyde mineralize odak oluşumunu arttırdığı hipotezimizi desteklemektedir.

Araştırmanın sonuçları MMP'nin *in vitro* şartlarda periodontal ligament hücrelerinin proliferasyon değerlerini artırdığını göstermektedir. Bu artış, farklı bireylerden elde edilen veriler sonucunda değişkenlik göstermektedir. MMP'nin periodontal rejeneratif süreçleri desteklediğini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Bu etkiler temelde hücre bazında gerçekleşen proliferasyon ve farklılaşma indüklenmesine bağlanmaktadır. Osteojenik farklılaşma periodontal dokuların şekillenmesinde önemli bir aşama olduğundan, MMP'nin hücrelerin 3 haftalık *in vitro* osteojenik indüksiyon şartlarındaki etkisi hem osteojenik işaretçiler, hem de mineralizasyon açısından incelenmiştir. Osteokalsin ve kemik sialoprotein'i kemikleşme sürecinde belirleyici iki hücre dışı matriks proteini olduklarından, osteojenik farklılaşmanın özgün işaretçileri olarak kabul edilirler. MMP'nin farklı derişimlerde bu ifadeyi artırdığı deneysel sonuçlardan görülmektedir. Hücre proliferasyonunda değişken etkisi olan MMP, *in vitro* şartlarda osteojenik hücre indüksiyonunu belirgin derecede artırmaktadır. Üç haftalık  $\beta$ -glycerophosphate, ascorbic acid ve dexamethasone etkisiyle kontrol kültürlerinde de artan Alizarin Kırmızısı boyanması, MMP uygulanmış kültürlerde çok daha belirgin bir oranda gerçekleşmiştir. Çalışmanın bulguları MMP'nin klinikte özellikle sert doku kazancı hedeflendiğinde kullanımının iyi bir endikasyonu olduğunu, ancak klinik düzeyde ölçülebilir ataşman kazancı sağlayamayabileceği hipotezini desteklemektedir. Klinik uygulamalarda multifaktöryel çevrede belirli oranda derişim sağlamak mümkün olmamaktadır ve bireysel farklılıklar da eklendiğinde değişik seviyelerde başarı elde edilmesi beklenebilir. Hücresel düzeydeki osteojenik farklılaşma indüksiyonunun, doza bağlı ve bireysel farklılıkları aşacak şekilde etki gösterdiği anlaşılmıştır. Bu çalışmanın bulguları, klinikte gittikçe yaygınlaşan MMP kullanımının hücresel düzeydeki etkilerinin aydınlatılmasına katkı sağlamaktadır. Periodontal rejeneratif işlemlerde klinik olarak ölçülebilir kazanç değerleri her olguda beklenen seviyelerde gerçekleşmeyebilmektedir. Bu çalışmanın sonuçlarının, hekimlerin hastalarının tedavi beklentilerini şekillendirirken, yüksek maliyeti olan böyle bir yöntemi seçmeleri durumunda olası klinik faydaları açıklamaları ve doğru karar vermelerini sağlamalarına katkısı olacağı düşünülmektedir.

### **Sonuç ve öneriler:**

Periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde YDR'ye ek olarak uygulanan MMP'nin klinik ve radyografik parametreler açısından ve *in vitro* ortamdaki hücresel düzeyde etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan çalışmamızın sonuçlarına göre;

1. Kemik defektlerinin tedavisinde YDR tekniği başarılıdır.
2. YDR'ye ek olarak uygulanan MMP kemik defektlerinin tedavisinde başarılı bir yöntemdir.
3. MMP türevleri tedavi sonuçlarını olumlu yönde etkilemektedir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamaktadır.
4. MMP+YDR uygulanan grupta operasyon sonrasında PI, GI ve DOKI değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı azalma gözlenmiştir. YDR uygulanan grupta operasyon sonrası PI, GI ve DOKI değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı azalma gözlenmiştir. Tedavi sonrası gruplar arası anlamlı fark gözlenmiştir. YDR uygulanan grupta daha fazla azalma gözlenmiştir.
5. MMP+YDR uygulanan grupta operasyonları sonrasında SCD değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmemiştir. YDR uygulanan grupta operasyon sonrası SCD değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.
6. MMP+YDR uygulanan grupta operasyonları sonrasında KAS değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir. YDR uygulanan grupta da operasyon sonrası KAS değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.
7. MMP+YDR uygulanan grupta operasyonları sonrasında DÇM değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı artış gözlenmiştir. YDR uygulanan grupta da operasyon sonrası DÇM değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı artış gözlenmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.
8. Klinik parametreler açısından YDR'ye ek olarak MMP kullanımı kemik içi defektlerinin rejeneratif tedavisini olumlu yönde etkilemekte ancak istatistiksel olarak anlamlı bir katkısı bulunmamaktadır.

9. MMP+YDR uygulanan grupta operasyonları sonrasında VKYD değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı azalma gözlenmiştir. YDR uygulanan grupta operasyon sonrası VKYD değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı azalma gözlenmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.
10. MMP+YDR uygulanan grupta operasyonları sonrasında DALD değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı azalma gözlenmiştir. YDR uygulanan grupta operasyon sonrası DALD değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı azalma gözlenmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.
11. MMP+YDR uygulanan grupta operasyonları sonrasında DAÇD değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir. YDR uygulanan grupta da operasyon sonrası DAÇD değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.
12. MMP+YDR uygulanan grupta operasyonları sonrasında KYD değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı artış gözlenmiştir. YDR uygulanan grupta da operasyon sonrası KYD değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı artış gözlenmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.
13. Radyografik parametreler açısından YDR'ye ek olarak MMP kullanımı kemik içi defektlerinin rejeneratif tedavisini olumlu yönde etkilemekte ancak istatistiksel olarak anlamlı bir katkısı bulunmamaktadır.
14. MMP'nin hücrese düzeyde oluşturduğu biyolojik etkiyi anlayabilmek için periodontal ligamanet fibroblastlarının canlılığı ve proliferasyon oranı değerlendirilebilmektedir.
15. MMP PDLF hücrelerinin canlılığını ve proliferasyonunu arttırmaktadır. Farklı dişlerde elde edilen değerler birbirinden farklı olmaktadır fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir.
16. MMP'nin periodontal ligament fibroblast hücrelerinde osteojenik farklılaşmaya etkisinin değerlendirilmesinde osteojenik işaretçilerden osteokalsin ve kemik sialoprotein seviyesi kullanılabilir.

17. MMP *in vitro* şartlarda osteokalsin ve kemik sialoprotein seviyesini arttırarak osteojenik hücre indüksiyonunu belirgin derecede arttırmaktadır.
18. MMP'nin etkisi ile oluşan *in vitro* osteogeneze bağlı mineralizasyon odakları Alizarin boyaması ile osteogenez sonunda değerlendirilebilmektedir.
19. MMP *in vitro* şartlarda periodontal ligament hücrelerinde mineralize doku oluşumunu arttırmaktadır.
20. MMP *in vitro* ortamda PDLF hücrelerinin canlılığını, proliferasyonunu, osteojenik hücre indüksiyonunu ve mineralize doku oluşumunu olumlu yönde etkilemekte ve hücresel düzeyde anlamlı bir katkısı bulunmaktadır.

## ÖZET

**Dikilitas A, Mine matriks protein türevlerinin periodontal defektlerde atışman kazancı ve *in vitro* ortamda periodontal ligament fibroblastlarının çoğalması ve farklılaşması üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi, Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Van, 2015.** Bu çalışmanın amacı; mine matriks protein (MMP) türevlerinin kemik içi defektlerde yönlendirilmiş doku rejenerasyonuna (YDR) ek olarak ve *in vitro* ortamda periodontal ligament fibroblastlarının canlılığı, çoğalması, osteojenik farklılaşması ve mineralizasyonuna etkisini değerlendirmektir. Yaşları 22-46 (ortalama 33,29±6,77) arasında değişen 33 kronik periodontitis hastasındaki 41 kemik içi defekt bu çalışmaya dahil edilmiştir. 41 kemik içi defekt rastgele MMP+YDR (22) ya da sadece YDR (19) ile tedavi edilmiştir. Klinik ve radyografik parametreler başlangıçta ve cerrahi işlem sonrası 6. ayda değerlendirilmiştir. Plak indeksi, gingival indeks, dişeti oluğu kanama indeksi, sondlanan cep derinliği, dişeti çekilmesi ve klinik atışman seviyesini içeren klinik parametreler; vertikal kemik yüksekliği, defekt açısı, defekt alanı ve kemik yoğunluk değişimini içeren radyografik parametreler değerlendirilmiştir. Periodontal ligamanet fibroblastlarının primer kültürü klinik olarak sağlıklı premolar dişinden elde edilmiştir. Periodontal ligament fibroblastlarının canlılığı ve çoğalma oranı MTT deneyi ile değerlendirilmiştir. Periodontal ligament fibroblastlarının osteojenik farklılaşması 3. haftada Enzime-bağımlı Immunosorbent Yöntemi ile mineralizasyonu ise 3. ve 4. haftalarda Alizarin kırmızısı ile değerlendirilmiştir. Bütün tedavi gruplarında 6. ayda başlangıca göre klinik ve radyografik parametrelerde anlamlı kazanç elde edilmiştir ( $p<0,05$ ). Cerrahi sonrası 6. ayda gruplar arası klinik ve radyografik parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). MMP'nin *in vitro* ortamda periodontal ligamanet fibroblastlarının canlılığını, proliferasyon oranını, osteojenik farklılaşmasını ve mineralizasyonunu arttırdığı bulunmuştur. Bu çalışmanın sınırları dahilinde MMP klinik ve radyografik parametrelerde YDR'ye ek olarak fayda sağlamamaktadır ve *in vitro* ortamda periodontal ligamanet fibroblastlarının çoğalması ve farklılaşmasını belirgin derecede etkilememektedir.

**Anahtar sözcükler:** Periodontal defekt, mine matriks protein türevleri, periodontal ligament fibroblast hücreleri, klinik atışman kazancı, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu

## SUMMARY

**Dikilitas A, Evaluation of the effects of enamel matrix derivatives on clinical attachment level in periodontal defects and on periodontal ligament cells' proliferation and differentiation *in vitro*, Yuzuncu Yil University, Institute of Health Sciences Department of Periodontology, Phd Thesis, Van, 2015.** The aim of this study was to evaluate the efficacy of enamel matrix derivatives (EMD) together with guided tissue regeneration (GTR) in the treatment of intrabony defects and on the viability, proliferation rate, osteogenic differentiation and mineralization of periodontal ligament cells *in vitro*. Forty one intrabony defects in 33 chronic periodontitis patients, aged 22-46 years (mean age 33,29±6,77) were selected for the study. Forty one intrabony defects were randomly treated with either GTR+EMD (22) or GTR (19) alone were included in this study. The clinical and radiographical parameters were evaluated at baseline and 6<sup>th</sup> month after surgery. Clinical measurement including plaque index, gingival index, sulcus bleeding index, probing depth, gingival recession, clinical attachment level; radiographical measurement including vertical bone height, defect angle, defect area and bone density were obtained. Primary cell culture of periodontal ligament fibroblasts were obtained from clinically healthy premolar teeth. Periodontal ligament fibroblasts viability and proliferation rate was determined by MTT assay. Periodontal ligament fibroblasts' osteogenic differentiation was studied by enzyme-linked immunosorbent assay at 3<sup>th</sup> week. Periodontal ligament fibroblasts' mineralization was assessed by Alizarine red S at 3<sup>th</sup> week and 4<sup>th</sup> week. All treatment modalities resulted in significant gains on clinical and radiographical measurement compared to baseline values at 6 month ( $p<0,05$ ). There were no statistically significant differences in clinical and radiographic measurements among the groups 6 months after surgery ( $p>0,05$ ). EMD increased significantly *in vitro* periodontal ligament fibroblasts viability, proliferation rate, osteogenic differentiation and mineralization. Within the limits of the present study, it might be suggested that the use of EMD added no clinical and radiographical benefit to GTR and EMD has the potential to significantly affect periodontal ligament cells' proliferation and differentiation *in vitro*.

**Key words:** Periodontal defect, enamel matrix derivative, periodontal ligament fibroblast cells, clinical attachment level, guided tissue regeneration

## KAYNAKLAR

- Alani A, Seymour R (2014). Systemic medication and the inflammatory cascade. *Periodontology 2000*, 64, 1, 198–210.
- Amar S, Chung K, Nam S, Karatzas S, Myokai F, Van Dyke T (1997). Markers bone and cementum formation accumulate in tissues regenerated in periodontal defects treated with expanded polyterafluoroethylene membranes. *Journal of Periodontal Research*, 32, 1, 148–158.
- Aukhil I, Pettersson E, Suggs C (1986). Guided tissue regeneration: an experimental procedure in beagle dogs. *Journal of Periodontology*, 57, 12, 727–734.
- Axelsson P, Nyström B, Lindhe J (2004). The long-term effect of a plaque control program on tooth mortality, caries and periodontal disease in adults. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 9, 749–757.
- Bartold PM, Cantley MD, Haynes DR (2010). Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontology 2000*, 53, 55–69.
- Bartold PM, McCulloch C A, Narayanan AS, Pitaru S (2000). Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontology 2000*, 24, 1, 253–69.
- Baum B, Mooney D (2000). The impact of tissue engineering on dentistry. *The Journal of the Ameican Dental Association*, 131, 3, 309–318.
- Becker W, Becker B, Berg L, Prichsrd J, Caffesse R, Rosenberg E (1988). New attachment after treatment with root isolation procedures: report for treated Class III and Class II furcations and vertical osseous defects. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 8, 3, 8–23.
- Becker W, Becker B, Handelsman M, Ochsenbein C, Albrektsson T (1991). Guided Tissue Regeneration for Implants Placed Into Extraction Sockets: A Study in Dogs. *Journal of Periodontology*, 62, 11, 703–709.
- Benn D (1990). A review of the reliability of radiographic measurements in estimating alveolar bone changes. *Journal of Clinical Periodontology*, 17, 1, 14–21.
- Bosshardt D (2008). Biological mediators and periodontal regeneration: a review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, 8, 87–105.
- Bosshardt DD, Sculean A (2009). Does periodontal tissue regeneration really work?. *Periodontology 2000*, 51, 1, 208–219.

- Budhiraja S, Bhavsar N, Kumar S, Desai K, Duseja S (2012). Evaluation of calcium sulphate barrier to collagen membrane in intrabony defects. *Journal of Periodontal & Implant Science*, 42, 6, 237–242.
- Bunyaratavej P, Wang H (2001). Collagen Membranes: A Review. *Journal of Periodontology*, 72, 2, 215–229.
- Caffesse RG, Sweeney PL, Smith B a (1986). Scaling and root planing with and without periodontal flap surgery. *Journal of Clinical Periodontology*, 13, 3, 205–210.
- Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Divnic-Resnik T, Pavlovic M, Kenney EB (2009). A surgical reentry study on the influence of platelet-rich plasma in enhancing the regenerative effects of bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *Journal of Periodontology*, 80, 6, 915–923.
- Campbell CD, Goldfarb D, Roe R (1975). A small arterial substitute: expanded microporous polytetrafluoroethylene: patency versus porosity. *Annals of Surgery*, 182, 2, 138–143.
- Carnevale G, Kaldahl WB (2000). Osseous resective surgery. *Periodontology 2000*, 22, 32, 59–87.
- Carranza F, Takei H (2006). Bone loss and patterns of bone destruction, chapter 28, in “*Carranza’s Clinical Periodontology*” Editors, M Newman, H Takei, P Klokkevold, F Carranza, 10<sup>nd</sup> Ed., 452-462, Saunders Elsevier
- Carranza F, Takei H, Cochran D (2006). Reconstructive Periodontal Surgery, chapter 67, in “*Carranza’s Clinical Periodontology*” Editors, M Newman, H Takei, P Klokkevold, F Carranza, 10<sup>th</sup> Ed., 968-983, Saunders Elsevier
- Caton J, Greenstein G (1993). Factors related to periodontal regeneration. *Periodontology 2000*, 1, 1, 9–15.
- Caton J, Zander H (1976). Osseous repair of an infrabony pocket without new attachment of connective tissue. *Journal of Clinical Periodontology*, 3, 1, 54–58.
- Cattaneo V, Rota C, Silvestri M, Piacentini A, Forlino A, Gallanti A, Rasperini G, Cetta G (2003). Effect of enamel matrix derivative on human periodontal fibroblasts: proliferation, morphology and root surface colonization. An in vitro study. *Journal of Periodontal Research*, 38, 6, 568–574.
- Chen C, Wang H, Smith F, Glickman G, Shyr Y, O’Neal R (1995). Evaluation of a Collagen Membrane With and Without Bone Grafts in Treating Periodontal Intrabony Defects. *Journal of Periodontology*, 66, 10, 838–847.

Chen F, Shelton RM, Jin Y ve Chapple ILC (2009). Localized Delivery of Growth Factors for Periodontal Tissue Regeneration: Role , Strategies , and Perspectives. *Medicinal Research Reviews*, 29, 3, 472–513.

Chitsazi M, Shirmohammadi A, Faramarzie M, Pourabbas R, Rostamzadeh A (2011). A clinical comparison of nano-crystalline hydroxyapatite (Ostim) and autogenous bone graft in the treatment of periodontal intrabony defects. *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 16, 3, 448–453.

Christgau M, Moder D, Wagner J, Glassl M, Hiller K, Wenzel A, Schmalz G (2006). Influence of autologous platelet concentrate on healing in intrabony defects following guided tissue regeneration therapy: A randomized prospective clinical split-mouth study. *Journal of Clinical Periodontology*, 33, 12, 908–921.

Clark DC, Chin Quee T, Bergeron MJ, Chan EC, Lautar-Lemay C, de Gruchy K (1987). Reliability of attachment level measurements using the cemento-enamel junction and a plastic stent. *Journal Periodontology*, 58, 2, 115–118.

Cleland WP (2000). Nonsurgical periodontal therapy. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 15, 4, 221–225.

Coomes A, Mealey B, Huynh-Ba G, Barboza-Arguello C, Moore W, Cochran D (2014). Buccal bone formation after flapless extraction: a randomized, controlled clinical trial comparing recombinant human bone morphogenetic protein 2/absorbable collagen carrier and collagen sponge alone. *Journal of Periodontology*, 85, 4, 525–35.

Cortellini P (2006). Reconstructive periodontal surgery: a challenge for modern periodontology. *International Dental Journal*, 56, 4, 1, 250–255.

Cortellini P, Carnevale G, Sanz M, Tonetti M (1998). Treatment of deep and shallow intrabony defects. A multicenter randomized controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 25, 12, 981–987.

Cortellini P, Pini Prato G, Baldi C, Clauser C (1990). Guided tissue regeneration with different materials. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 10, 2, 136–151.

Cortellini P, Pini Prato G, Tonetti M (1993). Periodontal Regeneration of Human Infrabony Defects. I. Clinical Measures. *Journal of Periodontology*, 64, 4, 254–260.

Cortellini T, Tonetti MS (2000). Focus on intrabony defects: guided tissue regeneration. *Periodontology 2000*, 22, 1, 104–132.

Crea A, Dassatti L, Hoffmann O, Zafiropoulos G, Deli G (2008). Treatment of intrabony defects using guided tissue regeneration or enamel matrix derivative: A 3-year prospective randomized clinical study. *Journal of Periodontology*, 79, 12, 2281–2289.

- Crigger M, Bogle G, Garrett S, Gantes B (1996). Repair following treatment of circumferential periodontal defects in dogs with collagen and expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes. *Journal of Periodontology*, 67, 4, 403–413.
- Crump T, Rivera-Hidalgo F, Harrison J, Williams F, Guo I (1996). Influence of three membrane types on healing of bone defects. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 82, 4, 365–374.
- Dahlen G, Lindhe J, Sato K, Hanamura H, Okamoto H (1992). The effect of supragingival plaque control on the subgingival microbiota in subjects with periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 19, 10, 802–809.
- Darveau RP, Tanner A, Page RC (1997). The microbial challenge in periodontitis. *Periodontology 2000*, 14, 1, 12–32.
- Davenport D, Mailhot J, Wataha J, Billman M, Sharawy M, Shrout M (2003). Effects of enamel matrix protein application on the viability , proliferation , and attachment of human periodontal ligament fibroblasts to diseased root surfaces in vitro, *Journal of Clinical Periodontology*. 30, 2, 125–131.
- De Faria Vasconcelos K, Evangelista KM, Rodrigues CD, Estrela C, de Sousa TO, Silva MAG (2012). Detection of periodontal bone loss using cone beam CT and intraoral radiography. *Dentomaxillofacial Radiology*, 41, 1, 64–69.
- Eickholz P, Benn D, Staehle H (1996). Radyografik evaluation of bone regeneration following periodontal surgery with or without expanded polytetrafluoroethylene barriers. *Journal of Periodontology*, 67, 4, 379–385.
- Falk H, Laurell L, Ravald N, Teiwik A, Persson R (1997). Guided tissue regeneration therapy of 203 consecutively treated intrabony defects using a bioabsorbable matrix barrier. Clinical and radiographic findings. *Journal of Periodontology*, 68, 6, 571–581.
- Femminella B, Traini T, Romano L, Di Tullio M, D’Arcangelo C, Paolantonio M (2012). Periodontal Healing of a Human Intrabony Defect Treated by Autogenous Periosteal Barrier Membrane and Bone Graft: A Clinical and Histologic Case Report. *Clinical Advances in Periodontics*, 2, 3, 162–170.
- Fiorellini JP, Kim DM, Ishikawa SO (2006a). The gingiva, chapter 4, in “*Carranza’s Clinical Periodontology*” Editors, M Newman, H Takei, P Klokkevold, F Carranza, 10<sup>nd</sup> Ed., 46- 63, Saunders Elsevier.
- Fiorellini JP, Kim DM, Ishikawa SO (2006b). The tooth-supporting structures, chapter 5, in “*Carranza’s Clinical Periodontology*” Editors, M Newman, H Takei, P Klokkevold, F Carranza, 10<sup>nd</sup> Ed., 68- 83, Saunders Elsevier.
- Francetti L, Fabbro M, Basso M, Testori T, Weinstein R (2004). Enamel matrix proteins in the treatment of intra-bony defects A prospective 24-month clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 1, 52–59.

- Francis J, Brunsvold M, Prewett A, Mellonig JT (1995). Francis R.M., Brunsvold M.A., Prewett A.B., Mellonig J.T.: Clinical evaluation of an allogenic bone matrix in the treatment of periodontal osseous defects. *Journal of Periodontology*, 66, 12, 1074–1079.
- Garrett S (1996). Periodontal regeneration around natural teeth. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology*, 1, 1, 621–666.
- Gestrelius S, Andersson C, Johansson AC, Persson E, Brodin A, Rydhag L, Hammarström L (1997). Formulation of enamel matrix derivative for surface coating. Kinetics and cell colonization. *Journal of Periodontology*, 24, 9, 678–684.
- Gestrelius S, Andersson C, Lidström D, Hammarström L, Somerman M (1997). In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 9, 685–692.
- Gestrelius S, Lyngstadaas S, Hammarström L (2000). Emdogain – periodontal regeneration based on biomimicry. *Clinical Oral investigation*, 4, 2, 120–125.
- Glossary of periodontal terms (2001). *American Academy of Periodontology*, 4<sup>nd</sup> Ed., 1–53.
- Goldman H, Cohen W (1958). The infrabony pocket: classification and treatment. *Journal of Periodontology*, 29, 4, 272–291.
- Gottlow J (1993). Guided tissue regeneration using bioresorbable and non-resorbable devices: initial healing and long-term results. *Journal of Periodontology*, 64, 11, 1157–1165.
- Gottlow J, Nyman S, Lindhe J, Karring T, Wennström J (1986). New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration Case reports. *Journal of Clinical Periodontology*, 13, 6, 604–616.
- Graziani F, Laurell L, Tonetti M, Gottlow J, Berglundh T (2005). Periodontal wound healing Periodontal wound healing following GTR therapy of dehiscence-type defects in the monkey: short-, medium- and long-term healing. *Journal of Clinical Periodontology*, 32, 8, 905–914.
- Greenberg J, Laster L, Listgarten M (1976). Transgingival probing as a potential estimator of alveolar bone level. *Journal of Periodontology*, 47, 9, 514–517.
- Greenwell H (2001). Position Paper: Guidelines for Periodontal Therapy. *Journal of Periodontology*, 72, 11, 1624–1628.
- Guida L, Annunziata M, Belardo S, Farina R, Scabbia A, Trombelli L (2007). Effect of autogenous cortical bone particulate in conjunction with enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intraosseous defects. *Journal of Periodontology*, 78, 2, 231–238.

- Haase HR, Bartold PM (2001). Enamel matrix derivative induces matrix synthesis by cultured human periodontal fibroblast cells. *Journal of Periodontology*, 72, 3, 341–348.
- Haber J, Wattles J, Crowley M, Mandell R, Joshipura K, Kent RL (1993). Evidence for Cigarette Smoking as a Major Risk Factor for Periodontitis. *Journal of Periodontology*, 64, 1, 16–23.
- Haffajee A, Socransky S (2001). Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. *Journal of Clinical Periodontology*, 28, 4, 283–295.
- Hammarström L (1997). Enamel matrix, cementum development and regeneration. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 9, 658–668.
- Hammerle C, Jung R (2003). Bone augmentation by means of barrier membranes. *Periodontology 2000*, 2003, 33, 36–53.
- Hamp S, Nyman S, Lindhe J (1975). Periodontal treatment of multi rooted teeth. Results after 5 years. *Journal of Clinical Periodontology*, 2, 3, 126–135.
- Haney J, Nilveus R, McMillan P, Wikesjö U (1993). Periodontal repair in dogs: expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes support wound stabilization and enhance bone regeneration. *Journal of Periodontology*, 64, 9, 883–890.
- Hardwick R, Hayes B, Flynn C (1995). Devices for dentoalveolar regeneration: an up-to-date literature review. *Journal of Periodontology*, 6, 6, 495–505.
- Hattar S, Asselin A, Greenspan DC, Oboeuf M, Berdal A, Sautier JM (2004). Effect of enamel matrix protein-coated bioactive glasses on the proliferation and differentiation of the osteogenic mc3t3.e1 cell line. *Key Engineering Materials*, 254-256, 749–752.
- He J, Jiang J, Safavi K, Spångberg L, Zhu Q (2004). Emdogain promotes osteoblast proliferation and differentiation and stimulates osteoprotegerin expression. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 97, 2, 239–245.
- Howell TH, Fiorellini JP, Paquette David W, Offenbacher S, Giannobile WV, Lynch SE (1997). A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-bb and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *Journal of Periodontology*, 68, 12, 1186–1193.
- Ilgenli T, Dündar N, Kal BI (2007). Demineralized freeze-dried bone allograft and platelet-rich plasma vs platelet-rich plasma alone in infrabony defects: A clinical and radiographic evaluation. *Clinical Oral Investigation*, 11, 1, 51–59.
- Image J (y.y.). [rsb.info.nih.gov/ij/docs](http://rsb.info.nih.gov/ij/docs), 24.03.15.
- Iorio-Siciliano V, Andreuccetti G, Blasi A, Matarasso M, Sculean A, Salvi GE (2014). Clinical outcomes following regenerative therapy of non-contained intrabony defects

using a deproteinized bovine bone mineral combined with either enamel matrix derivative or collagen membrane. *Journal of Periodontology*, 85, 10, 1–14.

Ivanovski S (2009). Periodontal regeneration, *Australian Dental Journal*, 54, 1, 118–128.

Iwata T, Yamato M, Ishikawa I, Ando T, Okano T (2014). Tissue engineering in periodontal tissue. *The Anatomical Record*, 297, 1, 16–25.

Jepsen S, Eberhard J, Herrera D, Needleman I (2002). A systematic review of guided tissue regeneration for periodontal furcation defects. What is the effect of guided tissue regeneration compared with surgical debridement in the treatment of furcation defects?. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, 3, 103–116.

Kao RT, Nares S, Reynolds MA (2015). Periodontal regeneration – intrabony defects : a systematic review from the aap regeneration workshop. *Journal of Periodontology*, 5, 1, 77–104.

Karring T, Lindhe J (2008). Concepts in periodontal tissue regeneration, chapter 25, in “*Clinical Periodontology and Implant Dentistry*” Editors, J Lindhe, NP Lang and T Karring, 5<sup>th</sup> Ed., 541–562. Blackwell Publishing Company: Oxford.

Keleş G, Sumer M, Çetinkaya B, Simsek B (2010). Effect of autogenous cortical bone grafting in conjunction with guided tissue regeneration in the treatment of intraosseous periodontal defects. *European Journal of Dentistry*, 4, 4, 403–411.

Kim C-S, Choi S-H, Chai J-K, Cho K-S, Moon I-S, Wikesjö UME, Kim C-K (2004). Periodontal repair in surgically created intrabony defects in dogs: influence of the number of bone walls on healing response. *Journal of Periodontology*, 75, 2, 229–235.

Kim T-S, Obst C, Zehaczek S, Geenen C (2008). Detection of bone loss with different X-ray techniques in periodontal patients. *Journal of Periodontology*, 79, 7, 1141–1149.

Kinane DF (2001). Causation and pathogenesis of the host responses of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 25, 1, 8–20.

Kinane DF, Bartold PM (2007). Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontology 2000*, 43, 27, 278–93.

Klein F, Kim TS, Hassfeld S, Staehle HJ, Reitmeir P, Holle R, Eickholz P (2001). Radiographic defect depth and width for prognosis and description of periodontal healing of infrabony defects. *Journal of Periodontology*, 72, 12, 1639–1646.

Kleinman HK, Klebe RJ, Martin GR (1981). Role of collagenous matrices in the adhesion and growth of cells. *The Journal of Cell Biology*, 88, 3, 473–85.

Kornman KS, Page RC, Tonetti MS (1997). The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000*, 14, 1, 33–53.

Kornman K, Robertson PB (2000). Fundamental principles affecting the outcomes of therapy for osseous lesions. *Periodontology 2000*, 22, 1, 22–43.

Kostopoulos L, Karring T (2004). Susceptibility of GTR-regenerated periodontal attachment to ligature-induced periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 5, 336–340.

Lam J, Takeshita S, Barker JE, Kanagawa O, Ross FP, Teitelbaum SL (2000). TNF- $\alpha$  induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *The Journal of Clinical Investigation*, 106, 12, 1481–1488.

Lang NP (2000). Focus on intrabony defects-conservative therapy. *Periodontology 2000*, 22, 11, 51–58.

Lekic P, McCulloch C a (1996). Periodontal ligament cell population: the central role of fibroblasts in creating a unique tissue. *The Anatomical Record*, 245, 2, 327–341.

Lekovic V, Camargo P, Weinlaender M, Vasilic N, Aleksic Z, KenneY E (2003). Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma , bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II molar furcations in humans. *Journal of Clinical Periodontology*, 30, 8, 746–751.

Leonardis DD, Paolantonio M (2013). Enamel matrix derivative, alone or associated with a synthetic bone substitute, in the treatment of 1- to 2-wall periodontal defects. *Journal of Periodontology*, 84, 4, 444–455.

Li X, Wang X, Zhao T, Gao B, Miao Y, Zhang D, Dong Y (2014). Guided bone regeneration using chitosan-collagen membranes in dog dehiscence-type defect model. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 72, 2, 304.e1–304. e14.

Lim H, Kim S, Moon S, Oh J, Jeong K, Park J, Jeong M (2011). Guided bone regeneration using mineralized bone allograft and barrier membrane derived from ox pericardium. *Journal of Korean Association Maxillofacial Plastic Reconstructive Surgery*, 33, 4, 359–362.

Lindhe J, Karring T, Araujo M (2008). The anatomy of periodontal tissues, chapter Chapter 1, in “*Clinical Periodontology and Implant Dentistry*” Editors, NP Lang and T Karring, 5<sup>nd</sup> Ed., 12- 20. Blackwell Publishing Company: Oxford.

Liu HW, Yacobi R, Savion N, Narayanan a S, Pitaru S (1997). A collagenous cementum-derived attachment protein is a marker for progenitors of the mineralized tissue-forming cell lineage of the periodontal ligament. *Journal of Bone and Mineral Research*, 12, 10, 1691–1699.

Liu S, Yang R-S, Al-Shaikh R, Lane J (1995). Collagen in tendon, ligament, and bone healing: a current review. *Clinical Orthopaedics & Related Research*, 318, 265–278.

Löe H, Sillness J (1963). Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontologica*, 21, 533–551.

Lynch SE, Castilla R De, Williams RC, Christopher P, Howell TH, Reddy MS, Antoniades HN (1991). The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *Journal of Periodontology*, 62, 7, 458–467.

Lyngstadaas SP, Lundberg E, Ekdahl H, Andersson C, Gestrelus S (2001). Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative. *Journal of Clinical Periodontology*, 28, 2, 181–188.

Mathur A, Bains V, Gupta V, Jhingran R, Singh GP (2015). Evaluation of intrabony defects treated with platelet-rich fibrin or autogenous bone graft: A comparative analysis. *European Journal of Dentistry*, 9, 1, 100–108.

Mavropoulos A, Aars H, Brodin P (2003). Hyperaemic response to cigarette smoking in healthy gingiva. *Journal of Clinical Periodontology*, 30, 3, 214–221.

Melcher AH (1976). On the Repair Potential of Periodontal Tissues. *Journal of Periodontology*, 47, 5, 256–260.

Melcher AH, McCulloch CAG, Cheong E, Nemeth E, Shiga A (1987). Cells from bone synthesize cementum-like and bone-like tissue in vitro and may migrate into periodontal ligament in vivo. *Journal of Periodontal Research*, 22, 3, 246–247.

Mellonig JT (1992). Autogenous and allogeneic bone grafts in periodontal therapy. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 3, 4, 333–352.

Meyle J, Hoffmann T, Topoll H, Heinz B, Al-Machot E, Jervøe-Storm P-M, MeiB C, Eickholz P, Jepsen S (2011). A multi-centre randomized controlled clinical trial on the treatment of intra-bony defects with enamel matrix derivatives/synthetic bone graft or enamel matrix derivatives alone: results after 12 months. *Journal of Clinical Periodontology*, 38, 7, 652–660.

Michalowicz BS, Diehl SR, Gunsolley JC, Sparks BS, Brooks CN, Koertge TE, Califano JV, Burmeister JA, Schenkein HA (2000). Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *Journal of Periodontology*, 71, November, 1699–1707.

Minabe M (1991). A critical review of the biologic rationale for guided tissue regeneration. *Journal of Periodontology*, 62, 3, 171–179.

Misch KA, Yi ES, Sarment DP (2006). Accuracy of cone beam computed tomography for periodontal defect measurements. *Journal of Periodontology*, 77, 7, 1261–1266.

Mitani A, Takasu H, Horibe T, Furuta H, Nagasaka T, Aino M, Fukuda M, Fujimura T, Mogi M, Noguchi T (2015). Five-year clinical results for treatment of intrabony defects

with EMD, guided tissue regeneration and open-flap debridement: a case series. *Journal of Periodontal Research*, 50, 1, 123- 130

Morrison E, Ramfjord S, Hill R (1980). Short- term effects of initial, nonsurgical periodontal treatment (hygienic phase). *Journal of Clinical Periodontology*, 7, 3, 199–211.

Moskow B, Polson A (1991). Histologic studies on the extension of the inflammatory infiltrate in human periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 18, 7, 533–537.

Murphy K (1995). Postoperative healing complications associated with Gore-Tex Periodontal Material. Part II. Effect of complications on regeneration. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 15, 6, 548–561.

Mühlemann H, Son S (1971). Gingival sulcus bleeding : A leading symptom in initial gingivitis. *Helvetica Odontologica Acta*, 15, 2, 107–112.

Nadarajah V, Neiders M, Cohen R (1997). Local inflammatory effects of composite resins. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 18, 4, 367–374.

Nagarale G, Thakur S, Ravindra S (2012). Rubber dam as a barrier membrane in the treatment of periodontal osseous defect. *Indian Journal of Dental Research*, 23, 6, 826–829.

Newbrun E (1996). Indices to measure gingival bleeding. *Journal of Periodontology*, 67, 6, 555–561.

Nygaard-Ostby P, Bakke V, Nesdal O, Susin C, Wikesjö U (2010). Periodontal healing following reconstructive surgery: effect of guided tissue regeneration using a bioresorbable barrier device when combined with autogenous bone grafting. A randomized-controlled trial 10-year follow-up. *Journal of Clinical Periodontology*, 37, 4, 366–373.

Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J (1982). The regenerative potential of the periodontal ligament. *Journal of Clinical Periodontology*, 9, 3, 257–265.

Ogihara S, Tarnow D (2014). Efficacy of enamel matrix derivative with freeze-dried bone allograft or demineralized freeze-dried bone allograft in intrabony defects: a randomized trial. *Journal of Periodontology*, 85, 10, 1351–1360.

Okuda K, Momose M, Miyazaki A, Murata M, Yokoyama S, Yonezawa Y, Wolff LF, Yoshie H (2000). Enamel matrix derivative in the treatment of human intrabony osseous defects. *Journal of Periodontology*, 71, 12, 1821–1828.

Ooya K, Yamamoto H (1978). A scanning electron microscopic study of the destruction of human alveolar crest in periodontal disease. *Journal of Periodontal Research*, 13, 6, 498–503.

- Pabst MJ, Pabst KM, Collier J A, Coleman TC, Lemons-Prince ML, Godat MS, Waring MB, Babu JP (1995). Inhibition of neutrophil and monocyte defensive functions by nicotine. *Journal of Periodontology*, 66, 12, 1047–1055.
- Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS (1997). Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology 2000*, 14, 23, 216–48.
- Papapanou P, Tonetti M (2000). Diagnosis and epidemiology of periodontal osseous lesions. *Periodontology 2000*, 22, 1, 8–21.
- Papapanou P, Wennström J (1989). Radiographic and clinical assessments of destructive periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 16, 9, 609–612.
- Piattelli A, Scarano A, Russo P, Matarasso S (1996). Evaluation of guided bone regeneration in rabbit tibia using bioresorbable and non-resorbable membranes. *Biomaterials*, 17, 8, 791–796.
- Pihlstrom B, Michalowicz B, Johnson N (2005). Periodontal diseases. *The Lancet*, 366, 9499, 1809- 1820 .
- Pitaru S, Narayanan a S, Olson S, Savion N, Hekmati H, Alt I, Metzger Z (1995). Specific cementum attachment protein enhances selectively the attachment and migration of periodontal cells to root surfaces. *Journal of Periodontal Research*, 30, 5, 360–368.
- Pitaru S, Tal H, Seldinger M, Grosskopf A, Noffs M (1988). Partial regeneration of periodontal tissues using collagen barriers initial observations in the canine. *Journal of Periodontology*, 59, 6, 380–386.
- Pontes Andersen CC, Flyvbjerg A, Buschard K, Holmstrup P (2007). Relationship between periodontitis and diabetes: lessons from rodent studies. *Journal of Periodontology*, 78, 7, 1264–1275.
- Pontoriero R, Wennström J, Lindhe J (1999). The use of barrier membranes and enamel matrix proteins in the treatment of angular bone defects. A prospective controlled clinical study. *Journal of Clinical Periodontology*, 26, 12, 833–840.
- Pradeep a R, Rao NS, Agarwal E, Bajaj P, Kumari M, Naik S (2012). Comparative evaluation of autologous platelet-rich fibrin ve platelet-rich plasma in the treatment of three-wall intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *Journal of Periodontology*, 83, 12, 1499–1507.
- Pradeep a R, Shetty SK, Garg G, Pai S (2009). Clinical effectiveness of autologous platelet-rich plasma and Peptide-enhanced bone graft in the treatment of intrabony defects. *Journal of Periodontology*, 80, 1, 62–71.

- Quinones C, Caffesse R (1995). Current status of guided periodontal tissue regeneration. *Periodontology 2000*, 9, 1, 55–68.
- Ramseier CA, Rasperini G, Batia S, Giannobile WV (2012). Advanced reconstructive technologies for periodontal tissue repair. *Periodontology 2000*, 59, 1, 185–202.
- Reddy MS, Jeffcoat MK (1999). Methods of assessing periodontal regeneration. *Periodontology 2000*, 19, 1, 87–103.
- Rodrigues TLS, Marchesan JT, Coletta RD, Novaes AB, Grisi MFDM, Souza SLS, Taba M, Palioto DB (2007). Effects of enamel matrix derivative and transforming growth factor- $\beta$ 1 on human periodontal ligament fibroblasts. *Journal of Clinical Periodontology*, 34, 6, 514–522.
- Rosling B, Nyman S, Lindhe J (1976). The effect of systematic plaque control on bone regeneration in infrabony pockets. *Journal of Clinical Periodontology*, 3, 1, 38–53.
- Rösing CK, Aass AM, Mavropoulos A, Gjermo P (2005). Clinical and radiographic effects of enamel matrix derivative in the treatment of intrabony periodontal defects: a 12-month longitudinal placebo-controlled clinical trial in adult periodontitis patients. *Journal of Periodontology*, 76, 1, 129–133.
- Rummelhart JM, Mellonig JT, Gray JL, Towle HJ (1989). A comparison of freeze-dried bone allograft and demineralized freeze-dried bone allograft in human periodontal osseous defects. *Journal of Periodontology*, 60, 12, 655–663.
- Sakallıoğlu U, Yavuz Ü, Lütfioglu M, Keskiner I, Açıkgöz G (2007). Clinical outcomes of guided tissue regeneration with atrisorb membrane in the treatment of intrabony defects: a 3-year follow-up study. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 27, 1, 79–88.
- Salama H, Rigotti F, Gianserra R, Seibert J (1994). 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*, 14, 1, 17–33.
- Sanz M, Tonetti M, Zabalegui I, Sicilia A, Blanco J, Rebelo H, Rasperini G, Merli M, Cortellini P, Suvan JE (2004). Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins or barrier membranes: Results from a multicenter practice-based clinical trial. *Journal of Periodontology*, 75, 5, 726–733.
- Scabbia A, Cho KS, Sigurdsson TJ, Kim CK, Trombelli L (2001). Cigarette smoking negatively affects healing response following flap debridement surgery. *Journal of Periodontology*, 72, 1, 43–49.
- Scabbia A, Trombelli L (2004). A comparative study on the use of a HA/collagen/chondroitin sulphate biomaterial (Biostite) and a bovine-derived HA

xenograft (Bio-Oss) in the treatment of deep intra-osseous defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 5, 348–55.

Scantlebury T (1993). 1982-1992: A decade of technology development for guided tissue regeneration. *Journal of Periodontology*, 64, 11, 1129–1137.

Schallhorn RG (1988). Combined osseous composite grafting, root conditioning, and guided tissue regeneration. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 8, 4, 9–31.

Schlegel AK, Möhler H, Busch F, Mehl A (1997). Preclinical and clinical studies of a collagen membrane (Bio-Gide). *Biomaterials*, 18, 7, 535–538.

Schroeder HE, Münzel-Pedrazzoli S, Page R (1973). Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue in early chronic gingivitis in man. *Archives of Oral Biology*, 18, 7, 899–922.

Schwartz Z, Carnes D, Pulliam R, Lohmann C, Sylvia V, Liu Y, Dean D, Cochran DL, Boyan BD (2000). Porcine fetal enamel matrix derivative stimulates proliferation but not differentiation of pre-osteoblastic 2T9 cells, inhibits proliferation and stimulates differentiation of osteoblast-like MG63 cells, and increases proliferation and differentiation of. *Journal of Periodontology*, 71, 8, 1287–1296.

Schwartz Z, Goultschin J, Dean DD, Boyan BD (1997). Mechanisms of alveolar bone destruction in periodontitis. *Periodontology 2000*, 14, 1, 158–72.

Scott T, Towle H, Assad D, Nicoll B (1997). Comparison of bioabsorbable laminar bone membrane and non-resorbable ePTFE membrane in mandibular furcations. *Journal of Periodontology*, 68, 7, 679–686.

Sculean A, Schwarz F, Miliauskaite A, Kiss A, Arweiler N, Becker J, Brex M (2006). Treatment of intrabony defects with an enamel matrix protein derivative or bioabsorbable membrane: an 8- year follow-up split-mouth study. *Journal of Periodontology*, 77, 11, 1879–1886.

Sculean A, Schwarz F, Becker J, Brex M (2007). The application of an enamel matrix protein derivative (Emdogain) in regenerative periodontal therapy: a review. *Medical Principles Practice*, 16, 3, 167–80.

Sculean A, Kiss A, Miliauskaite A, Schwarz F, Arweiler N, Hannig M (2008a). Ten-year results following treatment of intra-bony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, 9, 817–824.

Sculean A, Windisch P, Szendrői-Kiss D, Horváth A, Rosta P, Becker J, Gera I, Schwarz F (2008b). Clinical and histologic evaluation of an enamel matrix derivative combined with a biphasic calcium phosphate for the treatment of human intrabony periodontal defects. *Journal of Periodontology*, 79, 10, 1991–1999.

Selvig KA, Kersten BG, Wikesjö UM (1993). Surgical treatment of intrabony periodontal defects using expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes: influence of defect configuration on healing response. *Journal of Periodontology*, 64, 8, 730–733.

Sharma A, Pradeep AR (2011). Treatment of 3-wall intrabony defects in patients with chronic periodontitis with autologous platelet-rich fibrin: a randomized controlled clinical trial. *Journal of Periodontology*, 82, 12, 1705–1712.

Shieh A, Wang H, O’Neal R, Glickman G, MacNeil R (1997). Development and clinical evaluation of a root coverage procedure using a collagen barrier membrane. *Journal of Periodontology*, 68, 8, 770–778.

Shimazaki Y, Saito T, Kiyohara Y, Kato I, Kubo M, Iida M, Yamashita Y (2006). The influence of current and former smoking on gingival bleeding: the Hisayama study. *Journal of Periodontology*, 77, 8, 1430–1435.

Shimizu E, Saito R, Nakayama Y, Nakajima Y, Kato N, Takai H, Kim DS, Arai, M, James S, Ogata Y (2005). Amelogenin stimulates bone Sialoprotein (BSP) expression through fibroblast growth factor 2 response element and transforming growth factor- $\beta$ 1 activation element in the promoter of the BSP gene. *Journal of Periodontology*, 76, 9, 1482–1489.

Shirakata Y, Eliezer M, Nemcovsky CE, Weinreb M, Dard M, Sculean A, Bosshardt DD, Moses O (2014). Periodontal healing after application of enamel matrix derivative in surgical supra/infrabony periodontal defects in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Journal of Periodontal Research*, 49, 1, 93–101.

Shue L, Yufeng Z, Mony U (2012). Biomaterials for periodontal regeneration: a review of ceramics and polymers. *Biomatter*, 2, 4, 271–277.

Siciliano VI, Andreuccetti G, Siciliano AI, Blasi A, Sculean A, Salvi GE (2011). Clinical outcomes after treatment of non-contained intrabony defects with enamel matrix derivative or guided tissue regeneration: a 12-month randomized controlled clinical trial. *Journal of Periodontology*, 82, 1, 62–71.

Sigurdsson T, Hardwick R, Bogle G, Wikesjö U (1994). Periodontal repair in dogs: space provision by reinforced ePTFE membranes enhances bone and cementum regeneration in large supraalveolar defects. *Journal of Periodontology*, 65, 4, 350–356.

Sigurdsson T, Lee MB, Kubota K, Turek TJ, Wozney JM, Wikesjö UME (1995). Periodontal repair in dogs: recombinant human bone morphogenetic protein-2 significantly enhances periodontal regeneration. *Journal of Periodontology*, 66, 2, 131–138.

Silness J, Løe H (1964). Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontologica*, 22, 121–135.

Silva CO, de Lima AFM, Sallum AW, Tatakis DN (2007). Coronally positioned flap for root coverage in smokers and non-smokers: stability of outcomes between 6 months and 2 years. *Journal of Periodontology*, 78, 9, 1702–1707.

Silvestri M, Ricci G, Rasperini G, Sartori S, Cattaneo V (2000). Comparison of treatments of infrabony defects with enamel matrix derivative, guided tissue regeneration with a nonresorbable membrane and Widman modified flap. *Journal of Clinical Periodontology*, 27, 8, 603–610.

Sims TM, Ammons W (2006). Resective osseous surgery, chapter 66, in “Carranza’s *Clinical Periodontology*” Editors, M Newman, H Takei, P Klokkevold and F Carranza, 10<sup>nd</sup> Ed., 950-963, Saunders Elsevier

Singh VP, Nayak DG, Uppoor AS, Shah D (2012). Clinical and radiographic evaluation nano-crystalline hydroxyapatite bone grafts (Sybograf) in combination with bioresorbable collagen membrane (Periocol) in periodontal intrabony defects. *Dental Research Journal*, 9, 1, 60–7.

Sırık Z, Ergin S, Işık G (2012). Diş hekimliğinde doku mühendisliğinin yeri- Tissue engineering in dentistry. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*, 46, 2, 47–57.

Slavkin H (1976). Towards a cellular and molecular understanding of periodontics: cementogenesis revisited. *Journal of Periodontology*, 47, 5, 249–255.

Soğur E, Baksı BG (2014). Peridontontal patolojilerin tanısında kullanılan görüntüleme teknikleri bölüm 2 : alternatif görüntüleme sistemleri ve görüntü analiz yöntemleri. *Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 35, 10–18.

Stavropoulos A, Sculean A, Karring T (2004). GTR treatment of intrabony defects with PLA/PGA copolymer or collagen bioresorbable membranes in combination with deproteinized bovine bone (Bio-Oss). *Clinical Oral Investigation*, 8, 4, 226–232.

Stavropoulos A, Chiantella G, Costa D, Steigmann M, Windisch P, Sculean A (2011). Clinical and histologic evaluation of a granular bovine bone biomaterial used as an adjunct to GTR with a bioresorbable bovine pericardium collagen membrane in the treatment of intrabony defects. *Journal of Periodontology*, 82, 3, 462–470.

Steffensen B, Weber H (1989). Relationship Between the Radiographic Periodontal Defect Angle and Healing After Treatment. *Journal of Periodontology*, 60, 5, 248–254.

Sykaras N, Opperman LA (2003). Bone morphogenetic proteins (BMPs): how do they function and what can they offer the clinician?. *Journal of Oral Science*, 45, 2, 57–73.

Şener E, Baksı B (2013). Peridontontal Patolojilerin Tanısında Kullanılan Görüntüleme Teknikleri Bölüm 1 : İki ve Üç boyutlu Görüntüleme Sistemleri. *Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 34, 2, 79–85.

Taba M, Jin Q, Sugai JV, Giannobile WV (2005). Current concepts in periodontal bioengineering. *Orthodontics Craniofacial Research*, 8, 4, 292–302.

Tabita P V, Bissada NF, Maybury JE (1981). Effectiveness of supragingival plaque control on the development of subgingival plaque and gingival inflammation in patients with moderate pocket depth. *Journal of Periodontology*, 52, 2, 88–93.

Tanner M, Solt C, Vuddhakanok S (1988). An evaluation of new attachment formation using a microfibrillar collagen barrier. *Journal of Periodontology*, 59, 8, 524–530.

Tarnow D, Fletcher P (1984). Classification of the vertical component of furcation involvement. *Journal of Periodontology*, 55, 5, 283–284.

Tatakis DN, Promsudthi A, Wikesjö UM (1999). Devices for periodontal regeneration. *Periodontology 2000*, 19, 1, 59–73.

Terranova V, Wikesjö U (1987). Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of functions of cells of the periodontium A Review. *Journal of Periodontology*, 58, 6, 371–380.

Tonetti MS, Pini Prato G, Cortellini P (1995). Effect of cigarette smoking on periodontal healing following GTR in intrabony defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 22, 3, 229–234.

Tonetti MS, Cortellini P, Suvan JE, Adriaens P, Baldi C, Dubravec D, Fonzar A, Fourmouis I, Magnani C, Muller-Campanile V, Patroni S, Sanz M, Vangsted T, Zabalegui I, Pini Prato G, Lang NP (1998). Generalizability of the added benefits of guided tissue regeneration in the treatment of deep intrabony defects. Evaluation in a multi-center randomized controlled clinical trial. *Journal of Periodontology*, 69, 11, 1183–1192.

Tonetti MS, Lang NP, Cortellini P, Suvan JE, Adriaens P, Dubravec D, Fonzar A, Fourmouis I, Mayfield L, Rossi R, Silvestri M, Tiedemann C, Topoll H, Vangsted T, Walkamm B (2002). Enamel matrix proteins in the regenerative therapy of deep intrabony defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, 4, 317–325.

Trombelli L (2005). Which reconstructive procedures are effective for treating the periodontal intraosseous defect?. *Periodontology 2000*, 37, 1, 88–105.

Trombelli L, Simonelli A, Pramstraller M, Wikesjö UME, Farina R (2010). Single flap approach with and without guided tissue regeneration and a hydroxyapatite biomaterial in the management of intraosseous periodontal defects. *Journal of Periodontology*, 81, 9, 1256–1263.

Tsitoura E, Tucker R, Suvan J, Laurell L, Cortellini P, Tonetti M (2004). Baseline radiographic defect angle of the intrabony defect as a prognostic indicator in regenerative periodontal surgery with enamel matrix derivative. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 8, 643–647.

- Tyagi P, Dhindsa M (2009). Tissue engineering and its implications in dentistry. *Indian Journal of Dental Research*, 20, 2, 222–226.
- Usher F, Wallace S (1958). Tissue reaction to plastics a comparison of nylon, orlon, dacron, teflon, and marlex. *AMA Archives of Surgery*, 76, 6, 997–999.
- Van der Pauw M, Van den Bos T, Everts V, Beertsen W (2000). Enamel matrix-derived protein stimulates attachment of periodontal ligament fibroblasts and enhances alkaline phosphatase activity and transforming growth factor  $\beta$ 1 release of periodontal ligament and gingival fibroblasts. *Journal of Periodontology*, 71, 1, 31–43.
- Wang HL, Greenwell H (2001). Surgical periodontal therapy. *Periodontology 2000*, 25, 1, 89–99.
- Wang HL, Greenwell H, Fiorellini J, Giannobile W, Offenbacher S, Salkin L, Townsend C, Sheridan P, Genco RJ (2005). Periodontal regeneration. *Journal of Periodontology*, 76, 9, 1601–1622.
- Williams DF (2008). On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, 29, 20, 2941–2953.
- Windisch P, Sculean A, Klein F, Tóth V, Gera I, Reich E, Eicholz P (2002). Comparison of clinical, radiographic and histometric measurements following treatment with guided tissue regeneration or enamel matrix proteins in human periodontal defects. *Journal of Periodontology*, 73, 4, 409–417.
- Yılmaz S, Cakar G, Yildirim B, Sculean A (2010). Healing of two and three wall intrabony periodontal defects following treatment with an enamel matrix derivative combined with autogenous bone. *Journal of Clinical Periodontology*, 37, 6, 544–550.
- Yukna R (1992). Clinical human comparison of expanded polytetrafluoroethylene barrier membrane and freeze-dried dura mater allografts for guided tissue regeneration of lost periodontal support. I. mandibular molar class II furcations. *Journal of Periodontology*, 63, 5, 431–442.
- Zeichner-David M (2006). Regeneration of periodontal tissues: cementogenesis revisited. *Periodontology 2000*, 41, 244, 196–217.
- Zucchelli G, Amore C, Montebugnoli L, De Sanctis M (2003). Enamel matrix proteins and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: a comparative controlled clinical trial. *Journal of Periodontology*, 74, 12, 1725–1735.
- Zucchelli G, Bernardi F, Montebugnoli L, De SM (2002). Enamel matrix proteins and guided tissue regeneration with titanium-reinforced expanded polytetrafluoroethylene membranes in the treatment of infrabony defects: a comparative controlled clinical trial. *Journal of Periodontology*, 73, 1, 3–12.

## ÖZGEÇMİŞ

Ahu DİKİLİTAŞ, Kars'ın Kağızman ilçesinde 1982 yılında doğdu. İlkokul ve ortaokul eğitimini İzmir'de Cahide Ahmet Dalyanoğlu İlköğretim Okulunda bitirdi. Lise eğitimini ise İzmir Karşıyaka Lisesi'nde tamamladı. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesini 2000 yılında kazandı ve 1 yıl ingilizce hazırlık okudu. 2006 yılında diş tabibi olarak mezun oldu. 2007 yılında Van Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi'ne diş tabibi olarak atandı. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na 2010 yılında araştırma görevlisi olarak atanan Ahu DİKİLİTAŞ, aynı kurumda görevini sürdürmektedir.

# EK 1: ETİK KURUL KARARI

|                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                           |
|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| KARAR BİLGİLERİ                                            | <b>Karar No:05</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>Tarih: 05.12.2013</b>                                                  |
|                                                            | Doç.Dr.Bülend İNANÇ sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda bilgileri verilen <b>"Mine matriks protein türevlerinin periodontal defektlerde klinik ataşman kazancı ve <i>in vitro</i> ortamda periodontal ligament fibroblastlarının çoğalması ve farklılaşması üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi"</b> isimli klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir. |                                                                           |
|                                                            | <b>YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İLAÇ DIŞI KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                           |
|                                                            | <b>ÇALIŞMA ESASI</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu |
| <b>BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI: Doç.Dr. Oğuz TUNCER</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                           |

| Unvanı/Adı/Soyadı            | Uzmanlık Alanı                | Kurumu                                 | Cinsiyet                                                         | Araştırma ile ilişkisi                                           | Katılım *                                                        | İmza |
|------------------------------|-------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------|
| Doç.Dr. Oğuz TUNCER          | Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları | Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Yrd.Doç.Dr. Şükran SEVİMLİ   | Tıp Tarihi ve Etik            | Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Doç.Dr. Sıddık KESKİN        | İstatistik Uzmanı             | Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Doç.Dr. Mertihan KURDOĞLU    | Kadın Hastalıkları ve Doğum   | Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> |      |
| Doç.Dr. H.Ali GÜMRÜKÇÜOĞLU   | Kardiyoloji                   | Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> |      |
| Doç.Dr. Ufuk ÇOBANOĞLU       | Göğüs Cerrahi                 | Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Doç.Dr. İlhan GEÇİT          | Üroloji                       | Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> |      |
| Doç.Dr. Murat DOĞAN          | Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları | Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Yrd.Doç.Dr. Servet KAVAK     | Biyofizik Uzmanı              | Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Yrd.Doç.Dr. Bilal ÇEĞİN      | Anesteziyoloji ve Reanimasyon | Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Yrd. Doç.Dr. Hüseyin BEĞENİK | Dahiliye                      | Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Yrd.Doç.Dr. Fatih GARÇA      | KBB                           | Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Uzm.Dr. Ersoy ÖKSÜZ          | Farmakoloji Uzmanı            | Van Eğitim ve Araştırma Hastanesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Fatma PEKER                  | Hukuk                         | Van İl özel İdaresi                    | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Çiğdem ÖNER                  | Üniversite Mezunı             | -                                      | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |

\* :Toplantıda Bulunma