

**PERIODONTAL PATOGENEZİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE
KULLANILAN YÖNTEMLER****METHODS FOR EVALUATING PERIODONTAL PATHOGENESIS****GÜLAY TÜTER*****ÖZET**

Periodontal doku yıkımının patogenezi kompleks bir olaylar zincirini içine almaktadır. Bu olaylar; bakteriyel uyarımlarla serum komponentlerinin aktivasyonunu, vasoaktif bileşimlerin salınımını, inflamatuvar hücrelerin olaya katılımını, fagositlerin aktivasyonunu, inflamatuvar mediatörlerin ve immünglobülinlerin lokal salınımını içermektedir. Periodontal patogenezi değerlendiren araştırmalar periodontal hastalığın aktif fazını belirlemek için hassas yöntemler üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu makalede periodontal hastalık teşhis metodlarının günümüzdeki durumu değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler : Periodontitis, patogenezi, teşhis metodları

SUMMARY

The pathogenesis of periodontal tissue destruction involves a complex sequential events. These events include bacterial triggering of serum components, release of vasoactive compounds, recruitment of inflammatory cells, activation of phagocytes, local secretion of immunoglobulins and inflammatory mediators. Researches evaluating periodontal pathogenesis concentrates on sensitive methods to detect the active phases of periodontal disease. The focus of this paper is the current status of diagnostic methods for periodontal disease.

Key words : Periodontitis, pathogenesis, diagnostic methods

* Dr. GÜ Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı

GİRİŞ

Periodontitis; gingival inflamasyon, periodontal dokuların yıkımı ve alveolar kemiğin rezorpsiyonuna bağlı olarak dişlerin kaybedilmesi ile sonuçlanan kronik inflamatuvar bir hastalıktır²⁸. Son yıllarda periodontitisin aynı zamanda birçok sistemik değişikliklere de yol açabileceği gösterilmiştir. Araştırmalar periodontitis ile akut beyin felci¹¹, eklem ve organ nakillerindeki başarısızlıklar⁴⁷, koroner kalp hastalığı^{11,23}, düşük doğum ağırlığı, aspirasyon pnömonisi³⁶ ve diabet²⁶ arasında önemli ilişkiler bulunduğunu ortaya koymaktadır^{37,44,54,55}. Özellikle bazı bireylerde periodontitisin kardiovasküler patolojiler için önemli bir risk faktörü veya risk indikatörü olması dolayısıyla, bu durum periodontitis-arteriosklerozis sendromu ifadesi ile tanımlanmaya başlanmıştır⁴⁴. Bu noktada peri-

odontal patogenezin değerlendirilmesi oldukça önem kazanmaktadır. Periodontal hastalıkların etyolojisinde çok sayıda faktörün rol oynadığı bilinmektedir. Bu faktörler arasında yaş, ırk, sistemik hastalıklar, genetik ve sigara içme alışkanlığı öncelikle yer almaktadır^{28,38}. Bununla beraber, subgingival plakta varolan bazı spesifik organizmaların neden olduğu enfeksiyon, hastalık oluşumu ve şiddeti üzerinde etkin olan temel risk faktörüdür^{22,41,43}. Periodontitisin teşhisine yönelik çalışmalarda; hastada periodontitis var mı, varsa hangi türde, hastalık aktif mi in-aktif mi ve hastada periodontitise yatkınlık var mı soruları karşımıza çıkmaktadır^{40,46}. Konvansiyonel periodontal teşhis metodları sadece retrospektif teşhise izin verdiğini için fiziksel, biokimyasal, mikrobiyolojik ve immünolojik tanı yöntemleri ile bu sorulara cevap aranmaktadır. Bu durumda patogenezi; a) klinik tanı yöntemle-

ri, b) potansiyel inflamatuvar ve immün belirleyiciler, c) hücre ölümü ve doku yıkımının potansiyel belirleyicileri, d) kemik rezorpsiyonunun potansiyel belirleyicileri, e) dişeti cep sıvısındaki proteolitik ve hidrolitik enzim düzeylerinin tespiti, ve f) potansiyel mikrobiyolojik belirleyicileri içine alan bir mekanizmanın işleyişi ile incelemek gerekmektedir^{6,15,17,18,19,22,45,52}.

A) Klinik Yöntemler

Klinik yöntemler; hastalığa yatkınlık riskini belirlemeyi, aktif ve ilerleyen hastalıklı bölgelerin tespiti, tedavi yöntemi ile ilgili kararlar almayı, tedavi programını, idame safhasını ve prognozun tayinini hedeflemektedir. Ancak bu yöntemler tanımlayıcı olup hastalık gelişiminde subjektif ölçümlerdir ve hastalık gelişimini öngörmeye yetersizdirler^{27,34,37}. Geleneksel periodontal teşhis yöntemleri; dokunun rengi, konturu, dişeti çekilme miktarı, sondlamada kanama, sondlamada cep derinliği ve sondlanabilen ataşman seviyesi ölçümleri, süpürasyon varlığı, diş mobilitesi, furkasyon defekti varlığı, pozisyonu, tipi ve alveoler kemik kaybının radyografik olarak belirlenmesi şeklinde özetlenebilir^{14,21,51}. Teşhis için en sık kullanılan yöntem periodontal cep derinliği ölçümü ve ataşman seviyesinin tespitidir^{5,9,37}. Radyografik yöntemler; konvansiyonel radyografiler; vertikal bite-wings radyografiler, uzun kon paralel teknikle elde edilen radyografiler ve ortopantografalar olarak bilinir. Alveoler kemik densitesindeki veya kemik seviyesindeki küçük değişiklikleri saptayamazlar. Bilgisayarlı substraksiyon radyografileri ile yoğunluk ve hacim değişiklikleri açık ve koyu bölgeler şeklinde görülebilir^{30,38}. Bu ölçümle beraber otomatik ataşman seviyesi ölçümü yapan sondların kullanımıyla 0.72 sensitivite saptanmıştır¹³. Kemik densitesi ve seviyesindeki değişiklikler bilgisayarlı densitometrik imaj analizleri ile belirlenebilmektedir^{3,30,38}.

B) Potansiyel inflamatuvar ve immün belirleyiciler

Periodontal patolojide rol oynayan potansiyel inflamatuvar ve immün belirleyiciler hastalık gelişimi sırasında inflamatuvar ve immün hücrelerden salınan antibodiler (total immünglobülin, IgG altgrupları), kompleman proteinleri, prostoglandin gibi inflamatu-

ar mediatörler, çeşitli interlökinler (IL) ve tümör nekroz faktördür (TNF)^{22,46}. Periodontopatik bakteri antijenlerine karşı üretilen antibodiler serum, dişeti cep sıvısı (DCS) ve dişeti dokusunda saptanabilmekte, DCS'ndaki ve dişeti dokusundaki total Ig miktarı arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır. Araştırmaların bir bölümünde DCS total Ig miktarı ile hastalık şiddeti ve gelişimi arasında herhangi bir ilişki varlığından söz edilmezken^{33,46}, diğer bir bölümünde DCS IgG1 ve IgG4 subgruplarının hastalık gelişimine bağlı artış gösterdiği belirlenmiştir^{15,22,49}. Kompleman sistem; 9 veya daha fazla üyesi bulunan bir proteinler zinciridir. İnflamasyon bölgelerden elde edilen DCS'nda buldukları ortaya konulmuştur¹⁰. Ancak periodontal hastalık aktivitesi ile ilişkileri gösterilmemiş olduğu için diagnostik değerleri tartışılır. Sitokinler küçük proteinler veya peptidlerdir, hücre membranına spesifik reseptörleri ile bağlanarak hücrede özel bir fonksiyona yol açarlar. En iyi bilinen sitokinler IL'lerdir. IL-1 ve TNF- α aktive olmuş makrofajlarca salgılanır ve prostoglandin E₂ (PGE₂) ile kollagenaz üretiminde etkilidirler²². DCS sitokin düzeyleri ile ataşman kaybı arasında pozitif bir ilişki bulunduğu saptanmasına rağmen, sitokinler artan ataşman kaybı için daha önceden bir belirleyici olma özelliği taşımamaktadırlar⁹. Sitokinler ELISA yöntemi ile belirlenebilirler, bu nedenle klinik test sistemleri için önemli bir potansiyel teşkil ederler. PGE₂ proinflamatuvar ve immün regülatör fonksiyonlara sahiptir, osteoklastik kemik rezorpsiyonunu stimüle etmesi nedeniyle periodontal patolojide önemli rol oynayabilir¹⁵. Araştırmalar periodontal dokular ve DCS PGE₂ düzeyi ile periodontal hastalığın şiddeti arasında önemli bir korelasyon bulunduğunu göstermektedir²². Bu yönüyle PGE₂ periodontal hastalık aktivitesinde prediktif rol oynayabilir. DCS PGE₂ düzeyleri de ELISA yöntemi ile belirlenebilmektedir⁴².

C) Hücre ölümü ve doku yıkımının potansiyel belirleyicileri

Periodontal hastalığa bağlı olarak gelişen hücre ölümünün miktarı, hasara uğramış hücrelerden salınan sitosolik enzimler (hücre sitoplazması içerisindeki enzimler) ve bu enzimlerin konsantrasyonları ile belirlenebilir⁹. Aspartat amino transferaz (AST) ve laktat dehidrojenaz (LDH) bu enzimlerden olup, hücre ölümü ve doku yıkımının değerlendirilmesinde di-

agnostik amaçla tıpta da kullanılmaktadır. AST ve LDH nin periodontal dokulardan inflamatuvar eksuda ile periodontal cep içine geçtikleri düşünülmektedir^{3,4,18}. Bu nedenle periodontal hastalığa bağlı oluşan hücre ölümü miktarı, dolayısıyla da hastalık aktivitesi için önemli birer belirleyici olarak karşımıza çıkmaktadırlar^{29,48}. Fakat LDH periodontal hastalık aktivitesinin prediktifi olarak kabul edilmemektedir. Araştırmalarda (-glukuronidaz ve LDH 'nin sondlama cep derinliği, gingival ve plak indeksi ile ilişkili olduğu ancak bu ilişkinin (-glukuronidaz açısından daha güçlü olduğu saptanmıştır^{18,40}. Serum ve serobrosipinal AST düzeyleri doku nekrozu ve hücre ölümünün belirleyicisi olarak kullanılmaktadır. Uzun dönemli çalışmalarda DCS AST düzeylerinin ataşman kaybıyla ilişkili olduğu kaydedilmiştir⁴⁶.

Kalprotektin: Granülosit, monosit, makrofaj ve epitelial hücrelerden sentezlenen en temel sitosolik proteindir. Enfeksiyon, malign tümör ve allerjik reaksiyon durumlarında miktarı artmakta ve inflamatuvar hastalıklarda bir belirleyici olarak kabul edilmektedir. Diştaşı ve DCS'nda bulunmaktadır²⁵. Bir çalışmada DCS kalprotein düzeyi ile klinik ve biyokimyasal (DCS PGE₂, IL1(düzeyleri) parametreler arasında korelasyon tespit edilmiştir. DCS seviyesi ELISA ile değerlendirilebilmektedir³¹.

Yumuşak doku yıkım ürünleri: Periodontitiste bağ doku yıkımı sonucu ortamda bu dokuların komponentleri olan kollagenler, proteoglikanlar, hyaluronan, fibronektin (FN) ve laminin görülür. Kollagen yıkımıyla hidroksiprolin, proteoglikan yıkımıyla glikozaminoglikanlar (GAG), GAG yıkımıyla heparan sulfat, kondroitin sulfat-4, kondroitin sulfat-6 açığa çıkar ve bu ürünler DCS da tespit edilebilirler^{2,46}.

Fibronektin: Serum ve bağ doku matriksinin normal komponentlerinden biri olup bağ dokuda hücre adezyonu ile ilişkilidir. DCS da bulunmaktadır. Araştırmalarda bozulmamış DCS FN moleküllerinin sağlıklı bölgelerde daha fazla olduğu ve tedaviden sonra bu moleküllerin sayısında artış görüldüğü belirlenmiştir. FN ile ilgili uzun dönemli çalışma bulunmamaktadır^{9,54}.

Hidroksiprolin: Kollagen yıkımı sırasında salı-

nır. Köpeklerde deneysel periodontitis gelişimi sırasında cep sıvısında varlığı gösterilmiştir^{33,53}.

GAG: Dişeti ve periodontal ligamentteki başlıca proteoglikanlar; hyaluronik asit, heparan sülfat, dermatan sülfat, kondroitin sülfat-4 olarak, kemik ve sementteki başlıca proteoglikan ise kondroitin sülfat-4 olarak belirlenmiştir. DCS GAG'larıyla periodontal hastalık ilişkisini gösteren uzun süreli bir çalışma yoktur^{20,35,40}.

D) Kemik rezorbsiyonunun potansiyel belirleyicileri

Çeşitli kemik morfojenik proteinlerinin yanında bazı bağ doku proteinleri de kemik mineralizasyonunda rol oynamaktadır. Bunlardan bazıları kemik rezorbsiyonunun dolayısıyla da periodontal hastalık aktivitesinin belirleyicisi olarak düşünülebilir. Kemik dokudaki bu spesifik proteinler; osteonektin, kemik fosfoprotein, osteokalsin ve tip I kollagenin teleopeptidleri olarak sıralanabilir¹⁹.

Osteonektin ve kemik fosfoprotein: Osteonektin mineralizasyonun başlangıç döneminde önemli rol oynadığı düşünülen kemik matriksinin bir komponentidir. Her iki proteinde DCS'nda tespit edilmiştir. Toplam miktarlarının cep derinliğinin artmasıyla arttığı gösterilmiş olduğu için periodontal hastalık şiddetiyle ilişkili olabilirler^{2,46}.

Osteokalsin: Osteokalsin mineralize dokularda en fazla bulunan non-kollagenöz proteindir. DCS'nda seruma oranla 10 kez fazla bulunmaktadır. Araştırmalarda DCS'ndaki osteokalsin düzeyi ile periodontitisli hastalara ait klinik parametreler arasında önemli derecede ilişki belirlenmiştir³². Osteokalsinin hayvanlarda oluşturulan deneysel periodontitiste de DCS miktarının arttığı bulgulanmıştır²⁴. Bu noktada osteokalsin oranlarının belirlenmesiyle, aktif kemik kayıpları önceden tespit edilebilir. Osteokalsin aktif kemik kaybının bir prediktörü olarak düşünülebilir²².

Tip I kollagenin teleopeptidleri: Tip I kollagen kemik organik matriksinin %90'ını oluşturur. Miksödem, post menopozal osteopöroz, primer hiperparatiroidizm ve tritoksikoz ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Tip I kollagenin teleopeptidlerinin periodontitisli hastaların DCS'lerinde ve köpeklerde deneysel periodontitislerde varlığı ortaya konulmuştur²⁷. Yapılan bir araştırmada toplam miktarı ile klinik indeksler ve radyolojik kemik kaybının ilişkili olduğu, periodontal tedaviyle bu miktarın azaldığı gösterilmiştir^{15,19}.

Osteonektin tespitinde nitroselüloz şeritler, osteokalsin ve tip I kollagen teleopeptidlerinin tespitinde klasik kağıt şeritler kullanılmaktadır. Osteonektin ve fosfoprotein Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ile, osteokalsin ELISA ya da radioimmunoassay ile, ve teleopeptidler radioimmunoassay ile değerlendirilir^{9,45}.

E) Dişeti cep sıvısındaki proteolitik ve hidrolitik enzim düzeylerinin tespiti

DCS'nda inflamatuvar hücrelerden orijin alan enzimler de bulunmaktadır. Bu enzimler bağ doku komponentlerini bozmaktadırlar. Bu komponentlerin en önemlileri kollagen ve proteoglikanlardır. DCS'nda mevcut proteolitik enzimler; kollagenaz, elastaz, katepsin L, katepsin B, katepsin D, triptaz, hidrolitik enzimler ise; arilsülfataz, β glukuronidaz, alkalin fosfat, asit fosfat ve lizozin' dir^{17,40}.

Kollagenazlar: Kollagenazlar, periodontitisde gözlenen doku yıkımının büyük bölümünden sorumlu olan metalloproteinaz enzim ailesinin bir üyesidirler. Makrofaj, nötrofil, fibroblast ve keratinositlerce sentezlenirler¹⁶. Araştırmalar DCS kollagenaz aktivitesinin gingival inflamasyon şiddeti, periodontal cep derinliği ve alveoler kemik kaybıyla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Kollagenetik aktivite ELISA, gelatin enzimografi, sentetik peptidlerin fluorogenik tayini, solusyonda kollagenin yıkımını takiben SDS-PAGE ve fluorografi ile analizi, ve yeni, spesifik, basit ve hızlı bir test olan SBA (soluble biotinylated-collagen assay:SBA) yöntemleri ile ölçülebilmektedir^{7,37}.

Katepsin benzeri proteazlar: Katepsinler hücre içi sistein proteinazlardandır, hücre dışı ortama çıktıklarında kollageni de içeren ekstraselüler matriks komponentlerini yıkıma uğratırlar. Katepsin B ve L özellikle kemik rezorpsiyonu sırasında aktive olup, fibroblastlar, makrofajlar ve osteoklastlar tarafından

sentezlenirler⁸. Katepsin B, D, H ve L'nin aktiviteleri benzerdir ve inflame dişeti dokularında ve bu bölgelerden alınan DCS'nda bulunurlar¹². inflamasyon düzeyinin artışına bağlı olarak enzim miktarlarının da artış gösterdiği saptanmıştır⁴⁰.

Elastaz: Nötrofil elastaz; elastin, kollagenin terminal peptid bölgeleri, fibrinojen, proteoglikanlar ve hemoglobin üzerinde aktiviteye sahiptir. PMN'ler tarafından sentezlenirler. DCS elastaz miktarının dişeti inflamasyonu, periodontal cep derinliği, ataşman ve kemik kaybıyla ilişkili olduğu belirlenmiştir. Enzim düzeyinin periodontal tedaviye bağlı olarak azaldığı bulgulanmıştır^{7,17}.

Triptaz: Dişeti dokularında DCS'na oranla daha fazla bulunmuştur. Mast hücrelerinde lokalizedir. DCS triptaz aktivitesinin ataşman ve kemik kaybı bulunan hastaların klinik parametreleriyle ilişkili olduğu tespit edilmiş olup triptazla ilgili uzun süreli bir çalışma yapılmamıştır³³.

β -glukuronidaz ve arilsülfataz: Aktive PMN'lerden salgılanan lizozomal enzimlerdir. Gingival inflamasyon, cep derinliği ve alveoler kemik kaybıyla önemli derecede ilişkili bulunmuşlardır. β -glukuronidaz'ın subgingival floradaki spiroketler, P. Gingivalis, P. intermedia ile ilişkili olduğu, enzim düzeyinin periodontal tedaviyle azaldığı gösterilmiştir. DCS β -glukuronidaz aktivitesi ile ataşman kaybı arasında güçlü bir ilişki olduğu tespit edildiği için ataşman kaybının iyi bir prediktörü sayılabilir^{33,46}.

Alkalin fosfat: PMN granüllerinde ve mineralize doku hücre membranlarında mevcuttur. Kemik metabolizmasında rolü bulunmaktadır. DCS enzim düzeyi ile cep derinliği ve kemik kaybı oranı arasında anlamlı bir ilişki olduğu ortaya konmuştur. Ancak enzimin prediktif değeri düşüktür⁶.

Asit fosfat: DCS'nda tespit edilmiş olup, DCS düzeyleri ile hastalık aktivitesi arasında bir korelasyondan söz edilmemektedir.

Myeloperoksidaz, lizozim ve laktoferrin: Makrofaj ve PMN'lerce sentezlenirler. Araştırmaların bir bölümünde klinik parametreler ile enzim düzeyleri

ilişkili bulunurken¹⁶, diğer bir grup araştırmada böyle bir ilişki varlığından söz edilmemektedir⁵⁰. Myeloperoksidaz düzeylerinin periodontal tedaviyle azaldığı saptanmıştır⁴⁵.

F) Potansiyel mikrobiyolojik belirleyiciler

Mikrobiyolojik tanı yöntemleri ile periodontitisle ilgili bir yada daha fazla patojen saptanabilmektedir. Ancak subgingival floradaki hangi patojenin hastalığa neden olduğunu veya hastalığın hangi evresinden sorumlu olduğunu tespit etmek güçtür. Bakteri türlerinin saptanması için kullanılan yöntemler; karanlık saha yada faz kontrast mikroskopisi, kültür teknikleri, immünolojik yöntemler, DNA / RNAproblar ve enzim/virülans faktör değerlendirilmesi başlıkları altında toplanabilir^{9,37,43}.

Kültür teknikleri: Subgingival plak örneklerinde bulunan mikroorganizmaların belirlenmesi için kullanılan en direkt yöntemdir. Aynı zamanda antibiyotiklere karşı hassasiyetleri de değerlendirilebilir. Ancak tüm bakteri türleri kültüre edilememekte ve kültüre edilen mikroorganizma oranı periodontal cep içerisindeki oranı yansıtmamaktadır³⁴.

Karanlık saha ya da faz kontrast mikroskopisi: Spesifik mikroorganizma ve bu mikroorganizmanın antibiyotiklere karşı hassasiyetinin belirlenemesi gibi dezavantajları vardır. Karanlık saha mikroskopisinin periodontal hastalığın teşhisi için daha uzun süre kullanımı söz konusu değildir⁴³.

Enzim veya virülans faktör değerlendirilmesi: Bu yöntem virülans faktör veya mikrobiyolojik aktiviteyi belirlemeye yönelik diğer belirteçleri ölçme esasına dayanır. Bazı enzimler belli mikroorganizma türlerince açığa çıkarılır ve bu enzimin ortamda bulunması ilgili mikroorganizma için bir teşhis yöntemi sayılır. Yöntemin en önemli dezavantajı plak örneğinde bulunan birden fazla bakteri türünün hangisinin enzim ürettiğinin belirlenememesidir³⁴.

immünolojik yöntemler: immünofloresan veya ELISA gibi çok spesifik immünolojik tekniklerin kullanımı ile bakteri türleri tanımlanabilir. Bu testler hedef mikroorganizmanın yüzeyindeki antijenlere karşı

spesifik antikorların kullanımı ve bir enzim ya da floresan belirleyici yardımı ile direkt ya da indirekt olarak antikorun belirlenmesi şeklinde işlev görür. Bu testlerin gelişimindeki en büyük sorun spesifik - kros-reaksiyona girmeyen - antikorların üretimine ihtiyaç duyulmasıdır³⁷.

DNA / RNA problar: Bu problar DNA ve RNA formlarına bağlanarak mikrobiyal karakterizasyonda rol oynarlar. Oldukça spesifik bir yöntemdir. Problar 30 dan fazla bakteri için spesifiktir ve spiroketler gibi kültürü zor olan organizmaların belirlenmesinde de kolaylık sağlarlar. Bunların yanında kantitatif veri elde edilemeyişi ve uygulanabilirliğinin sınırlı oluşu söz konusudur^{34,37}.

Günümüzde periodontitis sadece diş kayıplarıyla sonuçlanmakla kalmayıp, sistemik sağlığı etkileyen bir faktör olarak da gündeme gelmektedir. Eğer hastalık başlamadan önce veya henüz başlamışken tespit edilebilirse tedavi şansı ve başarısı artacağı için, prediktif faktörlerin belirlenmesi ve bunlara yönelik test sistemlerinin geliştirilmesi son derece önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Brandtzaeg P, Fagerhol MK. Distribution of a formalin-resistant myelomonocytic antigen in human tissues. Normal and aberrant occurrence in various epithelia. Am J Clin Pathol 87: 700-707, 1987.
2. Bowers MR, Fisher LW, Termine JD, Somerman MJ. Connective tissue-associated proteins in crevicular fluid: potential markers for periodontal diseases. J Periodontol 60: 448-451, 1989.
3. Chambers DA, Crawford JM, Mukherjee S, Cohen RL. Aspartate aminotransferase increases in crevicular fluid during experimental periodontitis in beagle dogs. J Periodontol 55: 526-530, 1984.
4. Chambers DA, Imrey PB, Cohen RL, Crawford JM, Alves MEA, McSwiggin TA. A longitudinal study of aspartate aminotransferase in human gingival crevicular fluid. J Periodont Res 26: 65-74, 1991.
5. Chapple ILC. Periodontal disease diagnosis: Current status and future developments. J Dent 25: 3-15, 1997.
6. Chapple ILC, Garner I, Saxby MS, Moscrop H, Matthews JB. Prediction and diagnosis of attachment loss by enhanced chemiluminescent assay of GCF alkaline phosphatase levels. J Clin Periodontol 26:190-198,1999.

7. Chen HY, Cox SW, Eley BM, Mantyla P, Ronka H, Sorsa T. MMP-8 levels and elastase activities in GCF from chronic adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 27:366-369,2000.
8. Cox SW, Eley BM. Tryptase-like activity in crevicular fluid from gingivitis and periodontitis patients. *J Periodont Res* 24: 41-44, 1989.
9. Çetiner D, Engel MU. Periodontal teşhiste günümüzdeki durum ve ileri diagnostik teknikler. *GÜ Dişhek Fak Derg* 17:35-42, 2000.
10. DeNardin AM, Sojar HT, Grossi SG, Christersson LA, Genco RJ. Humoral immunity of older adults with periodontal disease to *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 59: 4363-4370, 1991.
11. DeStefano F, Anda RF, Khan HS, Williamson DF, Russell CM. Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. *Br Dent J* 306: 688-691, 1993.
12. Eley BM, Cox SW. Cathepsin B and L-like activities at local gingival sites of chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 18: 499-504, 1991.
13. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis. 2. New clinical methods of diagnosis. *Br Dent J* 184: 71-74, 1998.
14. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis. 1. Traditional clinical methods of diagnosis. *Br Dent J* 184: 12-16, 1998.
15. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis 5. potential inflammatory and immune markers. *Br Dent J* 184(5):220-223,1998.
16. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis. 7. Proteolytic and hydrolytic enzymes link with periodontitis. *Br Dent J* 184: 323-376, 1998.
17. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis 8. commercial diagnostic kits based on GCF proteolytic and hydrolytic enzyme levels. *Br Dent J* 184(8):373-376, 1998.
18. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis 9. potential markers of cell death and tissue degradation. *Br Dent J* 184(9):427-430,1998.
19. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis 10. potential markers of bone resorption. *Br Dent J* 184(10):489-492, 1998.
20. Embry G, Olivers WM, Stanbury JB, Purvis JA. The electrophoretic detection of acidic glycosaminoglycans in human gingival sulcus fluid. *Arch Oral Biol* 27: 177-179, 1982.
21. Fowler C, Garrett S, Crigger M, Egelberg J. Histologic probe position in treated and untreated human periodontal tissues. *J Clin Periodontol* 9: 373-385, 1982.
22. Genco RJ. Host responses in periodontal diseases: current concepts. *J Periodontol* 63:338-355,1992.
23. Genco RJ. Periodontal disease and risk for myocardial infarction and cardiovascular disease. *Cardio Rev Rep* 19: 34-40, 1998.
24. Giannobile WV, Lynch SE, Denmark RG, Paquette DW, Fierollini JP, Williams RC. Crevicular fluid osteocalcin and pyridinoline cross-linked carboxyterminal teleopeptide of type I collagen as markers of rapid bone turnover in periodontitis. A pilot study in beagle dogs. *J Clin Periodontol* 22: 903-910, 1995.
25. Golden BE, Clohessy PA, Russell G, Fagerhol MK, Calprotectin as a marker of inflammation in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 74: 136-139, 1996.
26. Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus : a two way relationship. *Ann Periodontol* 3: 20-29, 1998.
27. Hemmings KW, Griffiths GS, Bulman JS. Detection of neutral protease (Periocheck) and BANA hydrolase (Perioscan) compared with traditional clinical methods of diagnosis and monitoring of chronic inflammatory periodontal disease. *J Clin Periodontol* 24:110-114,1997.
28. Iacopino AM, Cutler CW. Pathophysiological relationships between periodontitis and systemic disease:Recent concepts involving serum lipids. *J Periodontol* 71:1375-1384, 2000.
29. Imrey PB, Crawford JM, Cohen RL, Alves M, McSwiggin TA, Chambers DA. A cross-sectional analysis of aspartate aminotransferase in human gingival crevicular fluid. *J Periodont Res* 26: 75-84, 1991.
30. Jeffcoat MK. Radiographic methods for the detection of progressive alveolar bone loss. *J Periodontol* 63: 367-372, 1992.
31. Kido J, Nakamura T, Kido R, Ohiski K, Yamauchi N, Kataoka M, Nagata T. Calprotein in GCF correlates with clinical and biochemical markers of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 26:653-657,1999.
32. Kunimatsu K, Mataka S, Tanaka H. A cross-sectional study of osteocalcin levels in gingival crevicular fluid from periodontitis patients. *J Periodontol* 64: 865-869, 1993.
33. Lamster IB. The host response in GCF:potential applications in periodontitis clinical trials. *J Periodontol* 63(12):1117-1123,1992.
34. Lamster IB, Celenti RS, Jans HH, Fine JB, Grbic JT. Current status of tests for periodontal disease. *Adv Dent res* 7(2):182-190,1993.
35. Last KS, Stanbury JB, Purvis JA. Glycosaminoglycans in human gingival crevicular fluid as indicators of active periodontal disease. *Arch Oral Biol* 30: 275-281, 1985.
36. Loesche W, Lopatin DE. Interaction between periodontal disease, medical diseases and immunity in the older individual. *Periodontol* 2000 16: 80-105, 1998.
37. Mancini S, Romanelli R, Laschinger CA, Overall CM, Sodek J, McCulloch CAG. Assessment of a novel screening test for

- neutrophil collagenase activity in the diagnosis of periodontal diseases. J Periodontol 70:1292-1302,1999.
38. Mandel ID. Overview of clinical trials of periodontal diagnosis methods and devices. Ann Periodontol 2:98-107,1997.
 39. Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of IL-1(and 1-(in GCF: implications for the pathogenesis of periodontal disease. J Periodont Res 25:156-163,1990.
 40. McCulloch CAG. Host enzymes in GCF as diagnostic indicators of periodontitis. J Clin Periodontol 21:497-506,1994.
 41. Miyasaki KT. The neutrophil:mechanisms of controlling periodontal bacteria. J Periodontol 62:761-774,1991.
 42. Nakashima K, Roehrich N, Cimasoni G. Osteocalcin, PGE2 and alkaline phosphase in gingival crevicular fluid: their relations to periodontal status. J Clin Periodontol 21: 327-333, 1994.
 43. Offenbacher S, Collins JG, Arnold RR. New clinical diagnostic strategies based on pathogenesis of disease. J Periodont Res 28:523-535,1993.
 44. Offenbacher S, Madianos PN, Champagne CME, Southerland JH, Paquette DW, Williams RC, Slade G, Beck JD. Periodontitis-atherosclerosis syndrome:an expanded model of pathogenesis. J Periodont Res 34:346-352,1999.
 45. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. J Periodont Res 26:230-242,1991.
 46. Page RC. Host response tests for diagnosing periodontal diseases. J Periodontol 63:356-366,1992.
 47. Page RC. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. Ann Periodontol 3: 108-120, 1998
 48. Persson GR, de Rouen TA, Page RC. Relationship between gingival crevicular fluid levels of aspartate aminotransferase and active tissue destruction in treated chronic periodontitis patients. J Periodont Res 25: 81-87, 1990.
 49. Powell J, Alexander D, Smales F. Crevicular fluid IgG subclasses in health and periodontitis. J Dent Res 70 (special issue): 353, 1991.
 50. Smith QT, Hinrichs JE, Melnyk RS. Gingival crevicular fluid myeloperoxidase at periodontitis sites J Periodont Res 21: 45-55, 1986.
 51. Socransky SS, Haffajee AD, Goodson JM, Lindhe J. New concepts of destructive periodontal disease. J Clin Periodontol 11: 21-32, 1984.
 52. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology and progression of destructive periodontal disease: current concepts. J Periodontol 63: 322-331, 1992.
 53. Svanberg GK. Hydroxyproline determination in serum and gingival crevicular fluid. J Periodont Res 22: 133-138, 1987.
 54. Takashiba S, Ohyama H, Oyaizu K, Kogoe N, Murayama Y. HLAgenetics for diagnosis of susceptibility to early-onset periodontitis. J Periodont Res 34:374-378,1999.
 55. Watanabe K. Prepubertal periodontitis: a review of diagnostic criteria, pathogenesis and differential diagnosis. J Periodont Res 25:31-48, 1990.

Yazışma adresi

Dr. Gülay Tüter
GÜ Dişhekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı
06510 Emek - Ankara