

## ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERLE TEDAVİ EDİLMİŞ KÖK YÜZEYLERİNE KARŞI PRİODONTAL LİGAMENT HÜCRELERİNİN İN VİVO CEVAPLARI

Ateş PARLAR\*, Koksal BALOŞ\*, Tülin OYGÜR\*\*,  
Filiz SALIRLI\*, Osman GAZİOĞLU\*\*\*

### ÖZET

Bu çalışmanın amacı periodontal ligament hücrelerinin değişik yüzeylere karşı in vivo cevaplarını incelemek üzere bir deney modeli geliştirmek ve bu deney modeli kullanarak hastalıklı kök yüzeylerinin kimyasal tedavisinde kullanılan bazı materyallerin etkisini incelemektir. Bu araştırmada, geliştirilen deney modeli kullanılarak kök yüzeyi özelliklerinin, periodontal ligament hücrelerinin migrasyon ve ataşmanı ile yeni bağ dokusu ataşmanı oluşması üzerindeki etkileri incelenmiştir. Altı adet mongrel köpekte mandibuler premolar dişler bölgesinde vestibül tarafta köklerin açığa çıkmasını sağlayan fenestrasyon defektleri oluşturuldu. Deneysel periodontitis oluşturulmuş dişlerin köklerinden hazırlanan ve çeşitli mekanik ve/veya kimyasal işlemlerle tedavi edilen kök parçaları bu fenestrasyonların içine tam yerleşecek şekilde uyumlandı ve etrafı CaOH patı ile kapatıldı. Böylece fenestrasyonun periferinden gelecek periodontal ligament hücrelerinin doğal kök yüzeyi ile tedavi edilmiş kök yüzeyi arasındaki dar aralıkta selektif olarak çoğalmaları sağlanmış oldu. Operasyondan 3 ve 6 hafta sonra dekapite edilen köpeklerin deney bölgelerine ait dişler rutin işlemlerden geçirilerek histolojik olarak incelendiler. Sonuçlar doğal diş yüzeyi ile tedavi edilmiş diş yüzeyi arasındaki aralıkta yeni periodontal ligament oluştuğunu gösterdi. Deney aralığına bakan bütün yüzeylerde yeni sement ve yeni bağ dokusu ataşmanı oluştuğu bulgulandı.

Anahtar Kelimeler : Periodontal ligament, klorheksidin, tetrasiklin, sitrik asit, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu, bağ dokusu ataşmanı.

### SUMMARY

In Vivo Responses of Periodontal Ligament Cells to Root Surfaces Treated by Various Methods.

The aim of study was to develop an experimental model which may facilitate evaluation of in vivo responses of periodontal ligament cells to different surfaces. In this study this experimental model was used to evaluate the influence of the nature of root surfaces on the migration and attachment of in situ periodontal ligament cells and formation of new connective tissue attachment. Root specimens were prepared, from periodontally diseased teeth which received mechanical and/or chemical treatment. In six mongrel dogs alveolar bone was exposed on the vestibular side of the premolars of lower quadrants. Then a fenestration on the alveolar bone exposing the root surface and having dimensions suitable to accept a root specimen was created on each root of the premolar teeth. Treated root specimens were placed into the fenestration with their treated root surfaces facing the recipient roots. Flaps were replaced and sutured. By this methodology periodontal ligament cells from the periphery of the fenestration were allowed to selectively repopulate the secluded space between the natural root surface and treated root surfaces. Thereby, responses of viable and contiguous periodontal ligament cells to different root surfaces were evaluated on samples prepared 3rd. and 6th. weeks postoperatively for histologic observa-

G.Ü. Dişhek. Fak., Periodontoloji Anabilim Dalı.  
G.Ü. Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı.  
Gülhane Ask. Tıp Aka., Dişhek. Bilimleri Merkezi  
Periodontoloji Bölümü.

## GİRİŞ

Kronik periodontitis dişleri destekleyen dokuların kaybına yol açar ve bağ dokusu atışmanını kaybederek açığa çıkan kök yüzeyleri periodontal cep ortamının etkilerine maruz kalır (1,2). Açığa çıkan kök yüzeyleri yapısal değişikliklere uğrar ve bakteriyel endotoksinlerin penetrasyonu da gerçekleşebilir (3-6). Açığa çıkan kök yüzeylerinin temizlenmesi temel periodontal tedavinin en önemli prensiplerinden biridir. Temiz ve düzgün bir kök yüzeyi periodontal dokuları tutan inflamatuvar lezyonun çözülebilmesi için başlıca gerekliliklerden biridir. Bununla beraber, kök yüzeyleri yeterince temizlenmiş olsa bile geleneksel periodontal tedavi kazınmış kök yüzeyleri boyunca uzun epitel bağlantısı ile sonuçlanır ve önemli ölçülerde yeni bağ dokusu atışmanı sağlanamaz (11). Diğer taraftan ideal periodontal tedavinin amacının kaybedilmiş periodontal dokuların rejenerasyonunu da içermesi gerektiği belirtilmiştir (7). Diş destekleyen dokularda meydana gelen patolojik değişiklikleri geri döndürmek ve periodonsiyumun güvenilir rejenerasyonunu sağlamak üzere ortaya atılan yaklaşımlardan iki tanesi son zamanlarda önemli ölçüde dikkat çekmiştir (8). Bunlar :

1. Hastalıklı kök yüzeylerinin kimyasal olarak tedavi edilmesiyle erken iyileşme döneminde hücre ve fibril atışmanının teşvik edilmesi (9) ve;

2. Yeni bağ dokusu atışmanı oluşturma

tion. Morphologic and histometric evaluations were made on labic-lingual sections. Results have shown that a periodontal ligament was formed between the original root surface and the surface of the implanted root specimen. New cementum and connective tissue attachment were also observed on both root surfaces facing the secluded experimental space.

**Key Words :** Periodontal ligament; chlorhexidine/therapeutic use; citric acid/therapeutic use; tetracycline/therapeutic use; guided tissue regeneration; connective tissue attachment.

yeteneğine sahip tek hücre grubu olduğu iddia edilen periodontal ligament hücrelerine yara bölgesine yerleşme önceliğinin verilmesi (10) olarak özetlenebilecek yaklaşımlardır.

Kök yüzeylerine asit uygulanarak yapılan kimyasal tedavi yaklaşımı ile hayvan deneylerinde yeni bağ dokusu atışmanı oluşması teşvik edilebilmiştir (9). Topikal asit uygulamasının amaçları yüzeyel smear tabakasının uzaklaştırılması (12), kök yüzeyinin detoksifikasyonu (13) ve yüzey demineralizasyonu ile kolajen liflerin açığa çıkartılmasıdır (14,15).

Periodontal cerrahi tedaviyi takibeden iyileşme döneminde yara bölgesine toplanan hücreler oluşacak yeni dokunun ve iyileşmenin karakterini tayin ederler (16). Periodontal yara bölgesine ilk ulaşan hücreler tipik olarak dişeti epiteline ait hücrelerdir. Çünkü bu hücrelerin çoğalma ve göç etme hızları periodonsiyumun diğer hücrelerine oranla çok daha fazladır (16). Nyman, Lindhe ve Karring tarafından yürütülen bir seri araştırma yeni sement ve yeni bağ dokusu atışmanı oluşturma yeteneğinin sadece periodontal ligament hücrelerinde bulunduğunu ortaya koymuştur. Bunu sağlamak için yara bölgesinde çoğalma önceliğinin periodontal ligament hücrelerine verilmesini sağlayan bir teknik uygulanmalıdır (10, 17). Her iki yaklaşım da, yani kimyasal kök yüzeyi tedavisi ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonu uygulandıkları deney modelleri dahilinde olumlu sonuçlar vermişlerdir. Bununla beraber farklı deney modellerinin uygulanması ve bazı çelişkili sonuçlar, cereyan

eden biyolojik olayların tam olarak anlaşılabilmesini güçleştirmiştir. Örneğin kök yüzeyinin kimyasal tedavisinin etkileri ya replantasyon tekniği (18-20) ya kök parçalarının periodontal ligament içermeyen ortamlara implantasyonu (21-31) ya da hücre kültüründe incelenmiştir (32-37). Her ne kadar bu çalışmaların sonuçları asit ile muamele edilmiş kök yüzeylerine, periodontal ligament hücresi içermeyen ortamlarda bile yeni bağ dokusu ataşmanı sağlanabileceğini göstermiş ise de iyileşmekte olan bir periodontal yarada sitrik asit uygulamasının periodontal ligament fibroblastlarına karşı olumsuz etkiler yaptığını gösteren bulgular da mevcuttur (38, 39).

Çeşitli kök yüzeyi tedavilerinin etkilerini inceleyen araştırmalarda, canlı periodontal ligament hücrelerinin kök yüzeyinde öncelikle çoğalmasına imkân veren bir deney modeli bu zamana kadar hiç kullanılmamıştır. Bu sebeple canlılığını ve bütün biyolojik potansiyelini koruyan periodontal ligament hücrelerinin her hangi bir kimyasal faktörden etkilenmeden, değişik yöntemlerle tedavi edilmiş kök yüzeylerine karşı cevaplarını ve ataşman yönünden tercihlerini inceleyecek bir deney modeline ihtiyaç vardır.

Bu çalışmanın amacı periodontal ligament aralığına benzeyen ve onunla devamlılık gösteren izole edilmiş bir boşluk yaratarak ve bu boşlukta periodontal ligament hücrelerinin öncelikle çoğalmasını sağlayacak in vivo bir deney modeli oluşturmaktır. Bu deney modelindeki boşluğu çevreleyen iki kök yüzeyinden biri kolayca değişik özelliklere kavuşturulabileceğinden araştırmamızın ikinci bir amacı da geliştirilen deney modelini kullanarak değişik kök yüzeyi tedavilerinin periodontal ligament hücrelerinde uyandırdıkları cevapları incelemektir.

## MATERYAL ve METOD

Bu çalışma periodontal yönden sağlıklı 6 adet genç mongrel köpek üzerinde yürütüldü. Cerrahi işlemler sırasında köpekler intramuskuler Rompun (Bayer AG, Germany, 1 cc/10 kg) ve Ketalar (Parke-Davis Co., Morris Plains, NJ, 100 mg/10 kg) enjeksiyonu ile genel anestezi

altına alındılar. Deney periodounun başlangıcında köpeklerin alt ve üst çene kesici dişleri etrafında cerrahi olarak oluşturulan ve ligatürler ile kronikleştirilen periodontal defektler hazırlandı, böylelikle 12 hafta boyunca bakteri plağına maruz kalan açık kök yüzeyleri elde edildi (Şekil 1).

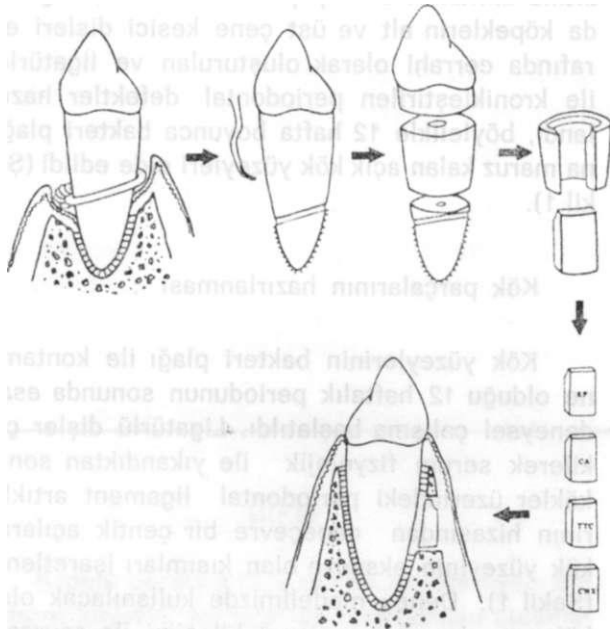
### Kök parçalarının hazırlanması :

Kök yüzeylerinin bakteri plağı ile kontamine olduğu 12 haftalık periodounun sonunda esas deneysel çalışma başlatıldı. Ligatürlü dişler çekilerek serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra kökler üzerindeki periodontal ligament artıklarının hizasından çepeçevre bir çentik açılarak kök yüzeyinin ekspoze olan kısımları işaretlendi (Şekil 1). Deney modelimizde kullanılacak olan kök parçaları mine-sement bileşimi ile çevresel çentik arasında kalan ekspoze kök yüzeylerinden hazırlandı. Kök yüzeyleri kazınıp düzleştirildi. Daha sonra kron ve ekspoze olmamış apikal kök kısmı kesilip çıkartıldı. Kök kanalı yüksek devirde türbin ile irrigasyon altında genişletilerek dentin duvarları inceltildi. En son olarak ta elde edilen içi boş kök silindirin çeperlerine yapılan vertikal kesitlerle 4x2x1 mm boyutlarında kök parçaları hazırlanmış oldu. Her bir kök parçasının kronal kısmında pulpa tarafında bir oluk oluşturularak implantasyon sırasında yön ve yüzey tespiti için bir referans hazırlanmış oldu (Şekil 1).

Her köpeğe toplam 8 adet kök parçası yerleştirildi. Köpeklere implante edilen kök parçaları her köpek için kendi dişlerinden hazırlandı. İmplantasyondan hemen önce kök parçaları dört gruba ayrıldı. Her grupta iki kök parçası mevcut olup, bir grup dışındakiler mekanik tedaviye ek olarak kimyasal muameleye de tabi tutuldular. Gruplar ve uygulanan kök yüzeyi tedavileri aşağıda gösterildiği şekilde organize edildi :

Grup A : Kök düzeltmesi.

Grup B : Kök düzeltmesi ve sitrik asit uygulaması (pH=1 sitrik asitin 1 dakika uygulanması ve ardından serum fizyolojik ile çalkalama).



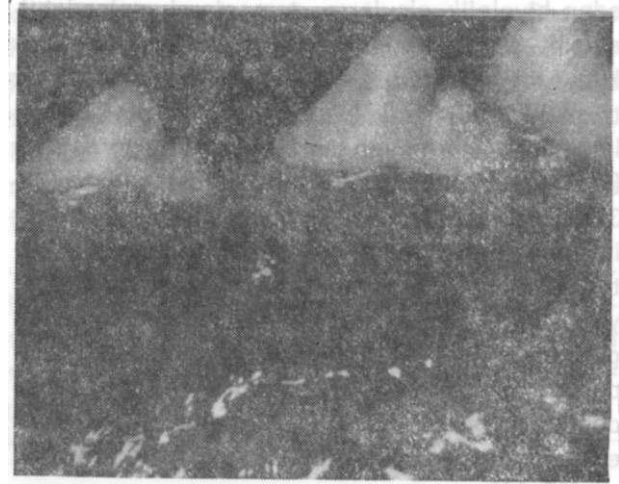
ŞEKİL 1. Deney modelinin diagramatik olarak gösterilmesi

Grup C : Kök düzeltmesi ve tetrasiklin HCL uygulanması (pH = 1.9 tetrasiklin HCL (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO}, 100 mg/ml 5 dakika uygulama ve ardından serum fizyolojikle çalkalama).

Grup D : Kök düzeltmesi ve % 4 klorheksidin uygulaması (Hibitane, ICI Ltd., Macclesfield, Great Britain, 3 dakika uygulama ve ardından serum fizyolojik ile çalkalama).

#### İmplantasyon işlemleri :

Ligatüre edilmiş olan dişlerin çekimini takiben bir araştırmacı kök parçalarını hazırlarken iki araştırmacı da aynı esnada implantasyon işlemlerini gerçekleştirdi. İmplantasyon işlemleri mandibuler üçüncü ve dördüncü premolar dişler üzerinde uygulandı (Resim 1a). Dişlerin vestibüler yüzeyinde, gingival marjinden yaklaşık 1 cm apikalden geçecek şekilde lineer bir insizyon yapıldı. Bunu takiben koronal yönde tam kalınlık flep kaldırılarak alveoler kemik açığa çıkartıldı (Resim 1b). Flep kaldırılırken dento-gingival birleşimin bozulmamasına dikkat edildi. Açığa çıkartılan bukkal kemikte her bir dişin kökleri üzerinde ayrı ayrı olmak üzere fenestrasyon defektlerinin açılması işlemine ge-



RESİM 1a. Deney bölgesinin operasyondan önceki görünümü.

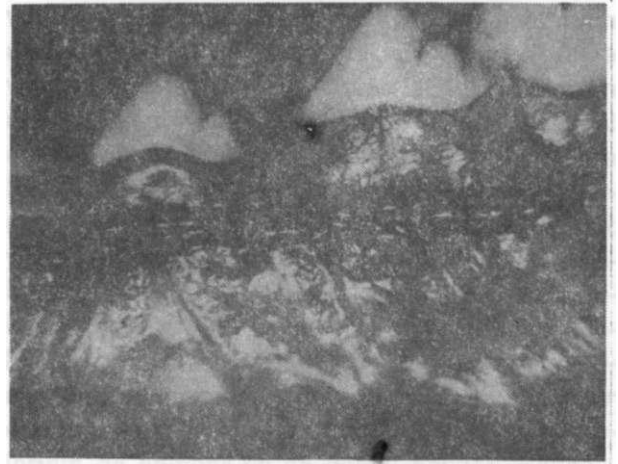


RESİM 1b. Alveoler kemiğin açığa çıkartılması.

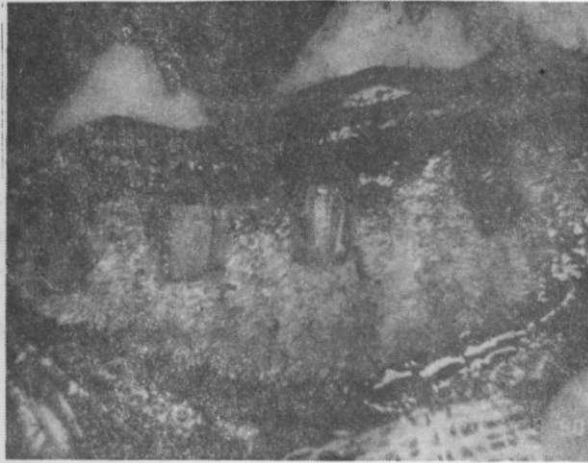
çildi. Kemik kesikleri kullanılarak, hazırlanmış olan kök parçalarının boyutlarına uygun (4x2 mm), fenestrasyon defektleri açıldı. Fenestrasyonlardan ortaya çıkan kök yüzeyleri kürete edilerek periodontal ligament artıkları uzaklaştırıldı ve bölge steril serum fizyolojik ile yıkandı. Daha sonra her bir fenestrasyonun içine bir adet kök parçası kapak tarzında yerleştirildi. Kök parçası yerleştirilirken tedavi edilmiş yüzeyinin deney bölgesindeki kök yüzeyine bakar tarzda olması sağlandı (Şekil 1 ve Resim 1d). Fenestrasyon kenarlarında implante edilen kök parçası ile kemik duvarlarının birleştiği hat kalsiyum hidroksit patı ile kapatılarak buradaki aralık mühürlenmiş oldu (Resim 1e). Flepler 4-0 ipek ip-



RESİM 1c. Fenestrasyon defektlerinin hazırlanması.



RESİM 1f. Deney bölgesinin siitürler ile primer olarak kapatılması.



RESİM 1d. Kök parçalarının fenestrasyonlar içine implantasyonu.

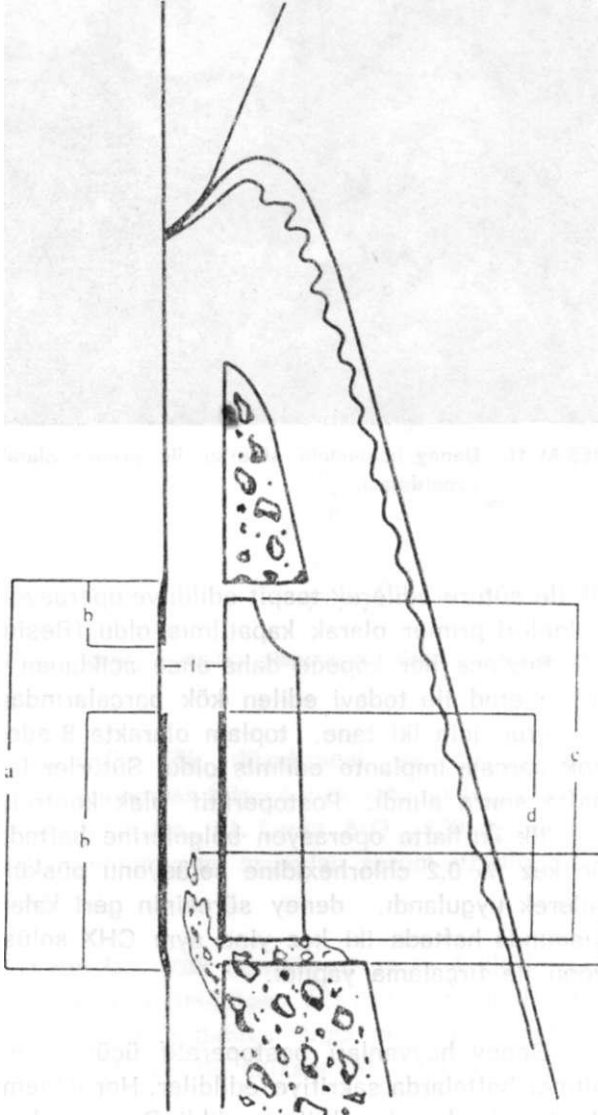


RESİM 1e. Kök parçası ve fenestrasyon periferinin CaOH ile kapatılması.

lik ile suture edilerek tespit edildi ve operasyon bölgeleri primer olarak kapatılmış oldu (Resim 1f). Böylece her köpeğe daha önce açıklanan 4 ayrı metod ile tedavi edilen kök parçalarından her grup için iki tane, toplam olarak 8 adet kök parçası implante edilmiş oldu. Sütürler bir hafta sonra alındı. Postoperatif plak kontrolü için ilk iki hafta operasyon bölgelerine haftada üç kez % 0.2 chlorhexidine solüsyonu püskürtülerek uygulandı, deney süresinin geri kalan kısmında haftada iki kez yine aynı CHX solüsyonu ile fırçalama yapıldı.

Deney hayvanları postoperatif üçüncü ve altıncı haftalarda sakrifiye edildiler. Her dönemde üç adet köpek sakrifiye edildi. Deney bölgelerini içeren çene bölgeleri çıkartılarak % 10 formalin ile fikse edildi. Formik asit+sodyum sitrat solüsyonu ile yapılan dekalsifikasyonu takiben her bir köke ait örnekleri parafin ile blokları. Bukko-lingual yönde alınan 6 mikrometre kalınlığındaki kesitler hematoxylin ve eosin ile boyanarak ışık mikroskopik incelemeye alındılar Morfolojik ve histometrik değerlendirmeler yapıldı. Kesitlerin histometrik değerlendirmesi kalibrasyonlu oküler grid kullanılarak ve x 40 ile x 100 büyütmelemlerde yapıldı. Histometrik değerlendirme için implantasyon bölgelerinde aşağıdaki lineer ölçümler yapıldı (Şekil 2) :

a. Enstrümante edilmiş kök yüzeyinin boyu (milimetre olarak)



ŞEKİL 2. Histometrik değerlendirme için ölçülen lineer mesafelerin şematik olarak gösterilmesi.

- b. Enstrümante edilmiş kök yüzeyinde yeni oluşan sementin uzunluğu (enstrümante edilmiş kök yüzeyinin uzunluğuna oranı olarak)
- c. Kök parçasının boyu (mm olarak)
- d. Kök parçası üzerinde oluşan yeni sementin uzunluğu (kök parçasının boyuna oranı olarak)
- e. Yeni oluşan kemik miktarı (mm olarak)
- f. İnterdental aralığın genişliği (mm olarak).

Her grup ve her dönem için ortalama değerler ve standart sapmaları hesaplanarak değerlendirildi.

Tanımsal histolojik incelemeler ise aşağıdaki kriterlere göre yapıldı :

1. İnflamasyonun derecesi, 2. Ankiloz varlığı ya da yokluğu, 3. Kök rezorpsiyonu varlığı ya da yokluğu, 4. Yeni sement oluşumu ve yeni bağ dokusu oluşumu.

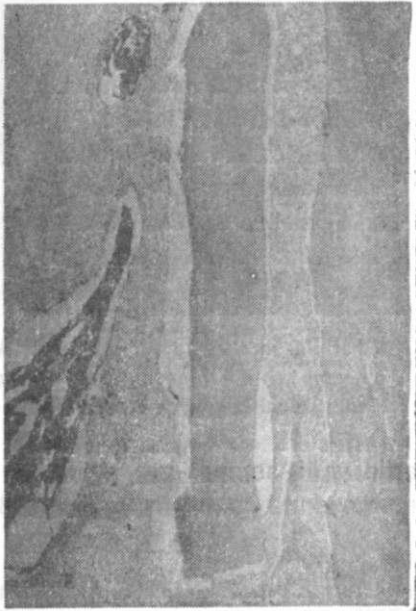
## BULGULAR

Bazı implantasyon bölgelerinde perforasyon ya da implantın kaybı gibi komplikasyonlar meydana geldi. Bu komplikasyonların gruplara göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

TABLO 1 : 3 ve 6 haftalık örneklerde komplikasyonların gruplara göre dağılımı.

	Kök parçalarının sayısı	İncelenen kök parçası sayısı	Eksfoliyeye olan kök parçası sayısı	Perforasyon sayısı
<b>3 HAFTA</b>				
Kök düzeltmesi	6	4	1	1
Sitrik asit	6	5		1
TTC	6	5		1
CHX	6	4	2	
<b>6 HAFTA</b>				
Kök düzeltmesi	6	4	1	1
Sitrik asit	6	5	1	
TTC	6	4	1	1
CHX	6	5		1

Histolojik incelemelerde doğal diş yüzeyi ile implante edilen kök parçası arasında kalan aralığın periodontal ligamente çok benzeyen ve onunla devamlılık arzeden olgun bir bağ dokusuyla dolmuş olduğu gözlemlendi (Resim 2 ve 3). Bütün örneklerde deney bölgelerinin çoğunlukla inflamasyondan uzak olduğu görülürken sa-



RESİM 2. İmplantasyon alanının genel histolojik görünümü



RESİM 3. İnterdental alandaki bağ dokusunun periodontal ligament ile benzerliği ve onunla devamlılığı izleniyor.

dece bir kaç örnekte hafif düzeyde inflamasyon varlığı izlendi. Bazı örneklerde kök implantının alveoler kemik ile yüzleşen kesik yüzeylerinde ve uygulanan tedavinin türüne bağlı olmaksızın ankiloz da gözlemlendi. Ankilozun nadiren tedavi edilmiş kök yüzeylerine doğru da uzandığı ve bu durumun daha ziyade apikal kısımda meydana geldiği dikkati çekti. Nadir olarak ta kök yüzeyine kemik spikülaları tarzında oluşan ankilozlara rastlandı. Kök parçalarının dişeti bağ dokusuna bakan yüzeylerinde aktif rezorpsiyon belirtileri mevcuttu. Apikal bölgede ankiloz gösteren örneklerden bazılarında daha önceden bir rezorpsiyon olduğu ve bu rezorpsiyon çukurlarının da sement ya da kemik benzeri maddeyle dolduğu gözlemlendi. Yeni kemik formasyonu bütün örneklerde görüldü. Yeni kemik yapımı özellikle apikal bölgede daha yoğun olarak meydana gelmişti. İnterdental aralıkta da yeni kemik yapımı gözlemlendi (Resim 4 ve 5). İnterdental aralığın genişliği arttıkça oluşan yeni kemiğin miktarda doğru orantılı olarak artmaktaydı. Bütün örneklerde kök yüzeylerinin hemen hemen tamamen yeni sement ve yeni bağ dokusu ataş-



RESİM 4. Hem kök parçası hem de doğal kök yüzeyi üzerinde önemli miktarda yeni sement meydana geldiği görülmektedir. İnterdental aralıkta artifaktüel ayrılma ve yeni kemik oluşumunda gözleniyor. 6 haftalık tetrasiklin örneği. İmplant edilen kök parçası resmin sol tarafında görülmüyor.



RESİM 5. 6 haftalık kök düzeltmesi örneğinde yeni sementi ve deneysel aralıkta yeni kemik oluşumu görülmektedir.

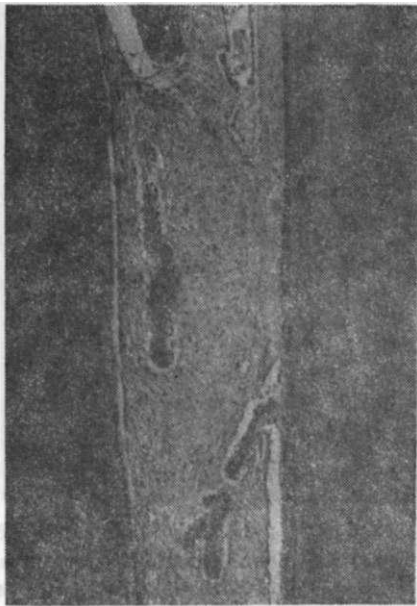


RESİM 7. 6 haftalık klorheksidin örneği. Her iki yüzeyde de yeni sement oluşumu belirgin olarak görülüyor. Doğal kök yüzeyi soldadır.

manı ile örtüldüğü gözlemlendi (Resim 6 ve 7). Altı haftalık örneklerde oluşan yeni sement miktarında artış olduğu dikkati çekiyordu. İmplant edilen kök parçalarının yüzeylerinde de önemli

miktarlarda yeni sement ve yeni bağ dokusu atışmanı meydana gelmişti (Resim 4-8).

Genel histomorfolojik tablo, 3 ve 6 haftalık örnekler arasında çok önemli farklılıklar bulunmadığını gösterdi. Histomorfolojik incelemelere ait bulgular Şekil 3 a ve 3 b'de özetlenmiştir.



RESİM 6. Resim 3'ten büyütülmüş alan. 3 haftalık klorheksidin örneği. Her iki kök yüzeyi arasında «yeni periodontal ligament» oluşmuştur. Doğal kök yüzeyi resmin sağındadır.



RESİM 8. 6 haftalık sitrik asit örneğinde yeni sement ve yeni bağ dokusu atışmanı izleniyor. Doğal kök yüzeyi resmin sağındadır.



HAFTA	İNFLAMASYON	ANKİLOZ		REZORPSİYON		YENİ SEMENT		ATAŞMAN	
		D	I	D	I	D	I	D	I
3									
KD	○	●	●	○	○	●	●	●	●
SA	○	○	○	○	○	●	●	●	●
TTC	○	○	○	○	○	●	●	●	●
CHX	○	○	○	○	○	●	●	●	●

HAFTA	İNFLAMASYON	ANKİLOZ		REZORPSİYON		YENİ SEMENT		ATAŞMAN	
		D	I	D	I	D	I	D	I
6									
KD	○	○	○	○	○	●	●	●	●
SA	○	○	○	○	○	●	●	●	●
TTC	○	○	○	○	○	●	●	●	●
CHX	○	○	○	○	○	●	●	●	●

ŞEKİL 3a. ve 3b. Histomorfolojik gözlemlere ait bulguların şematik olarak özetlenmesi. Şekil 3a da 3 hafta, 3b de ise 6 haftalık örnekler sunulmaktadır. (D : doğal diş yüzeyi, I: kök parçası implantı; her bulgu için yuvarlağı çevreleyen çizgi kalınlaştıkça ilgili örneğe ait histolojik bulgunun kuvvetlendiği ifade edilmektedir.)

Üç haftalık örneklerle ait histometrik ölçümlerin sonuçları Tablo 2'de gösterilmektedir. Bu sonuçlara göre sitrik asit ile tedavi edilmiş olan kök yüzeylerinde yeni sement formasyonu diğer örneklerle oranla daha yüksek değerlere ulaşmıştır. Tablo 3, altı haftalık örneklerde de aynı eğilimin tekrarlandığını göstermektedir.

TABLO 2. 3 haftalık örneklerde histometrik ölçüm sonuçları

	a	b	c	d	e	f
KD	4.30±0.17	91.40±4.84	3.30±0.08	59.85±0.90	1.12±0.04	0.43±0.03
SA	4.70±0.16	85.62±0.18	3.58±0.08	81.58±1.18	1.33±0.03	0.47±0.02
TTC	4.18±0.15	85.07±0.16	3.30±0.07	64.25±0.90	2.13±0.02	0.64±0.03
CHX	4.75±0.22	86.13±0.05	3.53±0.10	60.99±0.73	1.43±0.01	0.43±0.02

TABLO 3. 6 haftalık örneklerde histometrik ölçüm sonuçları

	a	b	c	d	e	f
KD	4.70±0.24	73.25±0.03	3.40±0.16	63.95±1.04	1.34±0.02	0.61±0.01
SA	4.44±0.31	97.11±0.38	3.20±0.07	90.62±0.21	1.34±0.01	0.45±0.01
TTC	4.50±0.29	90.45±0.02	3.50±0.16	73.56±0.84	1.93±0.02	0.67±0.01
CHX	5.08±0.26	85.16±0.05	3.60±0.16	64.99±0.77	1.33±0.02	0.54±0.01

K.D.: kök düzeltmesi, S.A.: sitrik asit, TTC: tetrasiklin, CHX: klorheksidin

a: Enstrümante edilmiş kök yüzeyinin boyu (mm olarak)

b: Enstrümante edilmiş kök yüzeyinde yeni oluşan sementin uzunluğu (enstrümante edilmiş kök yüzeyinin uzunluğuna oranı olarak)

c: Kök parçasının boyu (mm olarak)

d: Kök parçası üzerinde oluşan yeni sementin uzunluğu (kök parçasının boyuna oranı olarak)

e: Yeni oluşan kemik miktarı (mm olarak)

f: İnterdental aralığın genişliği (mm olarak).

## TARTIŞMA

Periodontal hastalık sonucunda kaybedilen destek dokuların rejenerasyonu periodontal tedavinin ana hedeflerinden birisidir (7). Yeni bağ dokusu ataşmanı oluşması için kök yüzeyinde periodontal ligament kaynaklı hücrelerin öncelikle çoğalması gerektiği bugüne kadar yapılmış bir çok çalışmada gösterilmiştir (10,17, 40). Öte yandan kök yüzeylerinin kimyasal tedavisi ile yeni ataşman oluşumunun teşvik edilebileceğine dair bulgular da mevcuttur (8, 9, 41-43).

Bu konuda yapılmış olan çalışmalar incelendiğinde literatürde çelişkili bulgulara rastlanmaktadır. Asit uygulanan ve uygulanmayan kök yüzeylerini karşılaştıran pek çok çalışmada asit uygulamasının yeni ataşman oluşumunu artırdığı yolunda sonuçlar rapor edilmiştir (8, 9, 14,18-20,26,29,31,43,44). Diğer bazı deneysel ve klinik çalışmalar ise asit uygulamanın her hangi bir yararlı etkisinin tespit edilemediğini bildirmiştir (23, 25, 45-49). Alan Polson ve ekibinin yürüttüğü bir seri deneysel çalışma konu üzerindeki tartışmaların daha da artmasına neden olmuştur. Çünkü bu araştırmacılar asit uygulanmış dentin yüzeylerine periodontal ligament hücrelerinin bulunmadığı ortamlarda dahi yeni ataşman sağlanabildiğini göstermişlerdir (9, 24, 26, 29-31). Nyman, Karring, Lind'ne ve arkadaşları tarafından yapılan seri çalışmalarda ise periodontal ligamentin hücreleri dışındaki hücrelerin yeni bağ dokusu ataşmanı oluşturma yeteneklerinin bulunmadığı ortaya konmuştur. Bu farklı bulgular bir yere kadar uygulanan deney modelleri arasındaki farklılıklar ile açıklanabilir. Periodontal literatürde pek çok gelişmiş deney modeli uygulandığı görülmektedir (20,23, 25, 26, 28, 32, 33, 37, 50, 51). Ancak kimyasal etkilere maruz kalmamış periodontal ligament hücrelerinin selektif olarak çoğalmasına imkân veren ve onların değişik yüzeylere karşı cevaplarının inceleneceği bir deney modeli henüz ortaya konamamıştır. Periodontal yara iyileşmesinde cereyan eden olayların biyolojisinin incelenmesinde sık kullanılan modellerden biri de fenestrasyon defektlerinin kullanılmasıdır (40, 52, 53). Fakat bu modelin kullanımında ancak ekspoze olmamış kök yüzeylerinin incelenebilmesi mümkündür. Diğer taraftan kim-

yasal ajanların fenestrasyon defektlerine direkt uygulanmasının periodontal ligament hücreleri üzerine olumsuz tesir ettiği de rapor edilmiştir (38, 39).

Bu çalışmamızda sunulan in vivo deney modeli değişik metodlarla tedavi edilmiş kök yüzeylerinin incelenmesi için, izole bir aralık yaratılarak içine öncelikle periodontal ligament hücrelerinin çoğalabileceği bir fenestrasyon sistemini ortaya koymaktadır.

Başta sitrik asit olmak üzere çeşitli kimyasal maddeler yeni ataşman oluşumunu teşvik etmek üzere kök yüzeylerine uygulanmıştır (8, 9,42). Son yıllarda tetrasiklin HCL'de kök yüzeylerini şartlandırmak üzere kullanılacak biyokimyasal maddeler arasında umut verici sonuçlar ortaya koymuştur (24, 43, 44, 54). İyi bilinen antiplak özelliklerinin yanısıra klorhekzidin'de % 4'lük solüsyon olarak kullanıldığında dentin kolajen liflerini açığa çıkartmada oldukça etkin bulunmuştur (55).

Çalışmamızın bulguları deneysel olarak oluşturulan aralıklarda periodontal ligamente son derece benzeyen bir bağ dokusu oluştuğunu göstermiştir. Bu dokuyu periodontal ligament olarak adlandırmak uygun olabilir, çünkü hem direkt olarak periodontal ligamentten kaynak almaktadır hem de periodontal ligament ile devamlılık göstermektedir. Kontrol yüzeylerinde yani ekspoze olmamış doğal kök yüzeylerinde bağ dokusu ataşmanının tamamen rejener olduğu gözlemlendi. Kök parçalarının tedavi edilmiş yüzeylerinde oluşan yeni sement ve yeni bağ dokusu ataşmanının miktarı periodontal ligament hücrelerinin kök yüzeyi özellikleri ile ilgili tercihlerinin bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Farklı kök yüzeyi tedavileri test edilen kök parçaları üzerinde değişik miktarlarda yeni sement ve yeni bağ dokusu ataşmanı oluşumuyla neticelendi. Sitrik asitle tedavi edilen kök yüzeylerine ait bulgular diğer yöntemlerle tedavi edilen kök yüzeylerine ait bulgulara oranla daha yüksek ataşmanı değerlerine ulaştığını gösterdi. Bu bulgumuz, sitrik asit uygulamalarının yeni ataşmanı teşvik ettiğini ortaya koyan araştırmaların sonuçları ile uyum halindedir (8,9,

19,29,30,43). Bununla beraber bizim çalışmamızda periodontal ligament hücrelerinin sitrik asitin etkisine maruz bırakılmadığı, dolayısıyla bu maddenin muhtemel zararlı etkilerinden korunduğu da unutulmamalıdır. Diğer üç tedavi grubunu oluşturan kök düzeltmesi, kök düzeltmesi + tetrasiklin HCL uygulaması, ve kök düzeltmesi + klorhekzidin uygulaması birbirine çok benzeyen sonuçlar gösterdi. Bu uygulamalar ile tedavi edilen kök yüzeylerinde de önemli miktarlarda yeni ataşman olduğu bulundu. Frantz ve Polson (24) dentinin tetrasiklin ile demineralize edilmesinin başlangıçta hücre ataşmanını arttırmasına rağmen bunun daha sonradan bağ dokusu ataşmanına dönüşmediğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda tetrasiklin ile tedavi edilen kök yüzeylerinde yeni ataşman meydana gelmesi bu araştırmacıların bulguları ile uyumlu değildir. Bu farklı bulgu deney modelleri arasındaki farklılık ve bizim çalışmamızdaki daha uzun iyileşme dönemleri ile açıklanabilir. Klorhekzidin uygulamasında yeni ataşman miktarlarını arttırmada etkili olmamıştır. Bu bulgumuz da Lai, O'Leary ve Kafrawy'nin (56) bulguları ile uyumludur. Öte yandan Alleyn ve arkadaşlarının (57) bildirdiği klorhekzidin'e ait olumsuz etkiler bizim çalışmamızda gözlenmemiştir. Bunun sebebi de, geliştirmiş olduğumuz deney modelinin periodontal ligament hücrelerini muhtemel kimyasal etkilerden korumuş olması ile açıklanabilir. Sadece mekanik yöntemle tedavi ettiğimiz ekspoze olmuş kök yüzeylerinde de önemli miktarlarda yeni ataşman meydana gelmesi periodontal ligament hücrelerinin yeni ataşman oluşumunda oynadıkları önemli rolün bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu bulgumuz asit ile tedavi edilmeyen kök yüzeylerinde yeni ataşman meydana gelmediğini ileri süren bazı araştırmaların bulguları ile ters düşmektedir (20, 26, 28-30). Ancak bahsedilen bu araştırmalar asit uygulanmamış kök yüzeylerini periodontal ligament hücresi içermeyen ortamlarda test etmişlerdir. Bizim deney modelimizde ise yara ortamında periodontal ligament hücrelerinin de bulunması asit uygulanmamış kök yüzeylerinde de yeni ataşman oluşmasını sağlamıştır. Bu bulgu yönlendirilmiş doku rejenerasyonu kavramını kuvvetle desteklemektedir.

Bu çalışmanın bulgularına göre aşağıdaki sonuçlara varılmıştır :

1. Kök yüzeylerinin periodontal ligament hücreleri tarafından öncelikle işgal edilmesi, yeni ataşman oluşumu açısından, kimyasal tedaviden daha önemli bir faktördür.

2. Kök yüzeylerinin sitrik asit ile tedavisi, periodontal ligament hücreleri kimyasal etkilerden korunduğunda ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonu prensipleri uygulandığında, yeni ataşmanı teşvik edebilmektedir.

3. Geliştirdiğimiz deney modeli periodontal ligament hücrelerinin değişik yüzeylere karşı cevaplarının incelenebilmesi potansiyeline sahiptir.

#### KAYNAKLAR

- Listgarten, M.A. : Pathogenesis of periodontitis. J. Clin. Periodontol., 13 ; 418-425, 1986.
- Loe, H., Anerud, A., Boysen, H., Morrison, E. : Natural history of periodontal disease in man. J. Clin. Periodontol.. 13 : 431-40, 1936.
- Selvig, K.A. : Ultrastructural changes in cementum and adjacent connective tissue in periodontal disease. Acta. Odont. Scand., 24 : 459-500, 1966.
- Aleo, J.J., De Renzis, F.A., Farber, P.A., Varbencoeur, A.P. : The presence and biologic activity of cementum bound endotoxin. J. Periodontol., 45: 672-675, 1974.
- Daly, C.G., Seymour, G.J., Kieser, J.B., Corbet, E.F. : Histological assessment of periodontally involved cementum. J. Clin. Periodontol., 9 : 266-274, 1982.
- Aleo, J.J., Vandersall, C.D. : Cementum : Recent concepts related to periodontal disease therapy. Dent. Clin. North America, 24 : 627-650, 1980.
- Stahl, S.S. : Repair potential of the soft tissue root interface. J. Periodontol., 48 : 545-552, 1977.
- Egelberg, J. : Regeneration and repair of periodontal tissues. J. Periodont. Res., 22 : 233-242, 1987.
- Polson, A.M. : The root surface and regeneration : Present therapeutic limitations and future biologic potentials. J. Clin. Periodontol., 13 : 995-999, 1986.
- Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T. : Reattachment-New Attachment İn : Lindhe J. ed. Textbook of clinical periodontology, Copenhagen : Munksgaard : 409-429, 1989.
- Wrthlin, M.R. : The current status of new attachment therapy. J. Periodontol., 52: 529-544, 1981.

12. Polson, A.M., Frederick, G.T., Ladenheim, S., Hanes, P.J.: The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid. *J. Periodontol.*, 55 : 443-446, 1984.
13. Olson, R.H., Adams, D.F., Layman, D.I. : Inhibitory effect of periodontally diseased root extracts of the growth of human gingival fibroblasts. *J. Periodontol.*, 592-596, 1985.
14. Garret, S., Crigger, M., Egelberg, J. : Effects of citric acid on diseased root surfaces. *J. Periodont., Res.*, 13 : 155-163, 1978.
15. Daryabegi, P., Pameijer, C.H., Ruben, M.P. : Topography of root surfaces treated in vitro with citric acid, elastase and hyaluronidase. A scanning electron microscopic study. Part II., *J. Periodontol.*, 52 : 736-742, 1981.
16. Melcher, A.H. : On the repair potential of periodontal tissues. *J. Periodontol.*, 47: 256-260, 1976.
17. Caffesse, R.G., Becker, W. : Principles and technique of guided tissue regeneration. *Dent. Clin. North America*, 35 : 479-494, 1991.
18. Klinge, B., Nilveus, R., Selvig, K.A. : The effect of citric acid on repair after delayed tooth replantation in dogs. *Açta. Odont. Scand.*, 42 : 351-359, 1984.
19. Polson, A.M., Proye, M.P.: Effect of root surface alterations on periodontal wound healing. II. Citric acid treatment of the denuded root. *J. Clin. Periodontol.*, 9 : 441-454, 1982.
20. Proye, M.P., Polson, A.M. : Effect of root surface alterations on periodontal healing. I. Surgical denudation. *J. Clin. Periodontol.*, 9 : 428-440, 1982.
21. Aukhil, I., Pettersson, E., Suggs, C.: Periodontal wound healing in the absence of periodontal ligament celis. *J. Periodontol.*, 58 : 71-77, 1987.
22. Aukhil, I., Suggs, C, Pettersson, E. : Healing following implantation of partially demineralized roots in palatal connective tissue. *J. Periodont. Res.*, 21 : 596-575, 1986.
23. Dreyer, W.P., Van Heerden, J.D. : The effect of citric acid on the healing of periodontal ligament free. healthy root horizontally implanted against bone and gingival connective tissue. *J. Periodont. Res.* 21 : 210-220. 1986.
24. Frantz, B., Polson, A.M. : Tissue interactions with dentin specimens after demineralization using tetracycline. *J. Periodontol.*, 59: 714-721. 1988.
25. Gottlov, J., Nyman, S., Karring, T. : Healing following citric acid conditioning of roots implanter into bone and gingival connective tissue. *J. Periodont. Res.*, 19 : 214-220, 1984.
26. Hanes, P.J., Polson, A.M., Ladenheim, S.: Celi and fiber attachment to demineralized dentin from normal root surfaces. *J. Periodontol.*, 56 : 752-765, 1985.
27. Hanes, P.J., Polson, A.M. : Celi and fiber attachment to demineralized cementum from natural root surfaces. *J. Periodontol.*, 60 : 188-189, 1989.
28. Lopez, N.J., Belvederessi, M.: Healing following implantation of healthy roots, with or without periodontal ligament tissue, in the oral mucosa. *J. Periodontol.*, 54 : 283-290, 1983.
29. Lopez, N.J. : Connective tissue regeneration to periodontally diseased roots, planed and conditioned with citric acid and implanted in the oral mucosa. *J. Periodontol.*, 55 : 381-390, 1984.
30. Polson, A.M., Ladenheim, S., Hanes, P.J. : Celi and fiber attachment to demineralized dentin from periodontitis affected root surfaces. *J. Periodontol.*, 57 : 235-246, 1986.
31. Polson, A.M., Hanes, P.J. : Celi and fiber attachment to demineralized dentin. A comparison between normal and periodontitis affected root surfaces. *J. Clin. Periodontol.*, 14 : 357-365, 1987.
32. Aukhil, I., Fernyhough, W.S. : Orientation of gingival fibroblasts in simulated periodontal spaces in vitro. *J. Periodontol.*, 57: 405-412, 1986.
33. Boyko, G.A., Melcher, A.H., Brunette, D.M.: Formation of new periodontal ligament cells implanted in vivo after culture in vitro. A preliminary study of transplanted roots in the dog. *J. Periodont. Res.*, 16 : 73-88, 1981.
34. Cogen, R.B., Al-Joburi, W., Gantt, D.G., Denys, F.R.: Effect of various root surface treatments on the attachment and growth of human gingival fibroblasts: Histologic and scanning electron microscopic evaluation. *J. Clin. Periodontol.*, 11 : 531-539, 1984.
35. Fernyhough, W.S., Page, R.C.: Attachment, growth and synthesis by human gingival fibroblasts on demineralized or fibronectin treated normal and diseased tooth roots. *J. Periodontol.*, 54: 133-141, 1983.
36. Pitaru, S., Gray, A., Aubin, J.S., Melcher, A.H.: The influence of the morphological and chemical nature of dental surfaces on the migration, attachment and orientation of human gingival fibroblasts in vitro. *J. Periodont., Res.*, 19: 408-418, 1984.
37. Pitaru, S., Melcher, A.H.: Organization of an oriented fiber system in vitro by human gingival fibroblasts attached to dental tissue : Relationship between the cells and mineralized and demineralized tissue. *J. Periodont., Res.*, 22 : 6-13, 1987.
38. Aukhil, I., Pettersson, E.: Effect of citric acid conditioning on fibroblast celi density in periodontal wounds. *J. Clin. Periodontol.*, 14: 80-84, 1987.
39. Pettersson, E., Aukhil, I.: Citric acid conditioning of roots effects guided tissue regeneration in experimental periodontal wounds. *J. Periodont., Res.*, 21 : 543-552, 1986.

40. Nyman, S., Gottlov, J., Karring, T., Lindhe, J : The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *J. Clin Periodontol.*, 9 : 257-265, 1982.
41. Morris. M.L. : The inductive properties of human dentin and cementum. *J. Periodontol.*, 56: 699-701, 1935.
42. Nightingale, S.H., Sheridan, P.J. : Root surface demineralization in periodontal therapy : Subject review. *J. Periodontol.*, 53 : 611-618, 1982.
43. Wikesjö, U.M.E., Claffey, N., Christersson, L.A., et.al: Repair of periodontal furcation defects in beagle dogs following reconstructive surgery including root surface demineralization with tetracycline hydrochloride and topical fibronectin application. *J. Clin. Periodontol.*, 15 : 73-80, 1988.
44. Terranova, W.P., Franzetti, L.C., Hic, et.al. : A biochemical approach to periodontal regeneration : Tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth. *J. Periodont. Res.*, 21 : 330-337, 1986.
45. Aukhil, I., Greco, G., Suggs, C, Torney, D. : Root resorption potentials of granulation tissue from bone and flap connective tissue. *J. Periodont., Res.*, 21 : 531-542, 1986.
46. Marks, S.C., Mehta, N.R. : Lack of effect of citric acid treatment of root surfaces on the formation of new connective tissue attachment. *J. Clin. Periodontol.*, 13 : 109-116, 1986.
47. Moore, J.A., Ashley, F.P., Waterman, C.A.: The effect on healing of the application of citric acid during replaced flap surgery. *J. Clin. Periodontol.*, 14 : 130-135, 1987.
48. Alger, F.A., Solt, C.W., Vuddhakanok, S., Miles, K.: The histologic evaluation of new attachment in periodontally diseased human roots treated with tetracycline hydrochloride and fibronectin. *J. Periodontol.*, 61 : 447, 1990.
49. Smith, B.A., Mason, W.E., Morrison, E.C., Caffesse, R.G. : The effectiveness of citric acid as an adjunct to surgical re-attachment procedures in humans. *J. Clin. Periodontol.*, 13 : 701-708, 1986.
50. Aukhil, I., Iglhaut, J., Suggs, C, Schaberg, T.V., Mandalinich, D. : An in vivo model to study migration of cells and orientation of connective tissue fibers in simulated periodontal spaces. *J. Periodont., Res.*, 20 : 392-402, 1985.
51. Bernstein, A.B., Preisig, E., Schroeder, H.: Formation of a new fibrous attachment to human dental roots. A new in vitro model for studying periodontal regeneration. *Celi Tissue Res.*, 254 : 659-670, 1988.
52. Aukhil, I., Simpson, D.M., Suggs, C, Pettersson, E. : In vivo differentiation of progenitor cells of the periodontal ligament. An experimental study using physical barriers. *J. Clin. Periodontol.*, 13 : 862-868, 1986.
53. Caton, J., De Furia, E.L., Polson, A.M., Nyman, S. : Periodontal regeneration via selective celi repopulation. *J. Periodontol.*, 58 : 546-552, 1987.
54. Wikesjö, U.M.E., Baker, P.J., Christersson, L.A., et.al.: A biochemical approach to periodontal regeneration: Tetracycline treatment conditions dentin surfaces. *J. Periodont., Res.*, 21 : 322-329, 1986.
55. Slater, C. : A scanning electron microscope study of the effects of various agents on instrumented periodontally involved root surfaces. Master's Thesis, Indiana University School of Dentistry, 1983.
56. Lai, H., O'Leary, T.J., Kafrawy, A.: The effect of different treatment modalities on connective tissue attachment. *J. Periodontol.*, 57: 604-612.
57. Alleyn, C.D., O'Neal, R.B., Strong, S.L., Scheidt, M.J., Van Dyke, T.E., Mc Pherson, J.C.: The effect of chlorhexidine treatment of root surfaces on the attachment of human gingival fibroblasts in vitro. *J. Periodontol.*, 62 : 434-438, 1991.