

SAĞLIKLI DİŞETİ CEBİ İÇİNE TAŞIRILAN KOMPOZİT VE
AMALGAM DOLGU MATERYALLERİNİN GİNGİVADA
OLUŞTURDUĞU PROSTAGLANDİN E₂ AKTİVİTE DÜZEYLERİNİN
İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

Tansev MIHÇIOĞLU* İlker KANZIK**

ÖZET

G.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı Kliniğine başvuran, dişetleri sağlıklı hastalar bu araştırma kapsamına alındı. 84 hasta cins ve yaşlarına bakılmaksızın seçildi.

Miradapt (Hibrid kompozit) ve Lumikon (klasik amalgam) dolgu materyalleri hastaların sağlıklı dişeti ceplerine maksatlı olarak taşırıldı.

Her iki materyal için, operasyon sahalarından cerrahi yöntemlerle 15, 21 ve 30 gün sonunda alınan örneklerdeki prostaglandin düzeyleri bioassay ile değerlendirildi.

t-testi ile saptanan sonuçlar, her iki materyalin de 15, 21 ve 30 günlük verilerinde anlamlı farklılıklar göstermiştir.

Anahtar Kelimeler : Taşkın dolgular, prostaglandin aktivite düzeyleri.

SUMMARY

IN VITRO STUDY OF PROSTAGLANDIN ACTIVITY LEVELS CAUSED BY COMPOSITE AND AMALGAM RESTORATIVE MATERIALS THAT IS INTENTIONALLY OVERFILLED INTO SOUND GINGIVAL POCKET

Patients admitted to the Dental Clinics of Conservative Therapy of Gazi University with sound gingival pockets were included in this research. 84 patients were chosen ignoring their ages and sex groups.

(*) G.Ü. Dişhek. Fak. Diş Hast. ve Ted. A.B.D. Öğr. Üyesi, Doç. Dr.

(**) G.Ü. Eczacılık Fak. Farmakoloji A.B.D. Başkanı, Prof. Dr.

The restorative materials Miradapt (Hybrid composite) and Lumicon (conventional amalgam) were intentionally overfilled into the sound gingival pockets of the patients.

The levels of prostaglandin were measured by bioassay for the specimens removed from the operation site by surgical means, for both restorative materials, after the periods of 15, 21 and 30 days respectively.

Results obtained by t-test showed meaningful differences for 15, 21 and 30 days values of both materials.

Key Words : Overfilled fillings, prostaglandin activity levels.

GİRİŞ

Dişeti ile genellikle yakın ilişkide olan BI II kavitelerde, dolgu materyallerinin taşırılması, her türlü önlem alınmasına karşın olasıdır. Özellikle posterior bölgede, dişlerin distal yüzlerindeki çürük kavitelerinin gerek açılması gerekse doldurulması, dişhekimleri açısından zorluklar oluşturur. Bu dolguların taşkın yapılması ise, hasta açısından çeşitli sorunlar yaratır. Son yıllarda bu tür olaylarda, prostaglandinler çok önem kazanmıştır.

Prostaglandinler, yapısındaki diğer malzemeler yanında oran olarak en çok arakidonik asit içeren, 20 karbonlu çok sayıda doymamış yağ asitlerinden çıkarılmışlardır (20).

Hücre membranlarının fosfolipazları, özellikle fosfolipaz A₂ nin, prostaglandin biyosentezinde önemli bir rol oynadığı kabul edilmiştir, çünkü doku fosfolipidleri arakidonik asitin en zengin kaynağıdır. Ancak arakidonik asitin, fosfolipaz A₂ den başka enzimlerin hareketi ile de açığa çıkarıldığı gösterilmiştir. Yüksek konsantrasyonda kolesterol arakidonatın bulunduğu ovaryumda, kolesterol esteraz aktivitesi, prostaglandin sentezine yol açacak biçimde, LH (Lüteinizing hormone) ile stimüle edilebilir (18).

Arakidonik asit metabolitlerinin geleceği adeta altın gibi sınırsız görülmektedir. Arakidonik asitin ilk prostaglandin metabolitleri aşağı yukarı 30 yıl kadar önce bulunmuştur, bunlar PGE₂ ve PGF₂ a idi (3).

Prostaglandinler, düz kas kontraksiyonlarında etkin olmaları nedeniyle, orjinal biçimde meni sıvısında bulunmuştur (27).

Prostaglandin E₂, arakidonik asitin orjinal olarak var olan bir metaboliti olup iltihap ile birlikte bulunur. Prostaglandinlerin iltihabi olaylardaki rolü çok iyi bilindiği halde, etki mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. İltihabi lezyonlarda PGE₂ lerin izole edildiği ve lokal enjeksiyonun da iltihabi cevap oluşturduğu bilinmektedir (4).

Son 30 yılda yapılan bilimsel çalışmalar, prostaglandinlerin, çeşitli patolojik oluşumlar ve sistemik rahatsızlıklarda önemli yer tuttuklarını ve direkt etki gösterdiklerini ortaya koymuştur (1, 28).

Yüzyılımızın başından bu yana, doku hormonları sahasında yapılan araştırmalarda birçok yeni madde bulunmuştur. Bunlardan en önemlileri, PGE₂, PGI₂ (Prostasiklin) ve tromboksan A₂ dır (24).

Goodson ve arkadaşları ve Goldhaber'den ayrı olarak, daha birçok araştırmacı, periodontal hastalıklarda PGE₂ düzeyinin çok yüksek olduğunu araştırmalarla kanıtlamışlardır (1, 8, 10, 12, 13, 24).

Harton (16), herhangi bir travma anında PG sentezinin hızlandığını ve PG'lerin lökositöze neden olduklarını yaptığı çalışmalarla açıklamıştır.

Prostaglandinlerin, gingival dokuları etkileyenleri de içerecek biçimde, iltihabi işlemlerin patogenezinde rol oynadığını düşündürecek yeterli kanıt toplanmıştır. Ayrıca prostaglandinler iltihaplı gingivada bulunmuştur (11, 13, 15).

Goodson ve arkadaşları (13) ve El Attar (5), normal dokularla karşılaştırdıklarında, periodontal sorunları olan hastaların gingival dokularında, yüksek oranlarda PGE₂ saptamışlardır.

MATERYAL VE METOD

I. Hastaların gruplandırılması :

Araştırmamızda, her iki cinsiyetten ve her yaşta hasta seçildi. Rastgele örnekleme yöntemi ile kontrol ve deney grupları oluşturuldu. Kontrol grubuna 12 hasta ayrıldı ve kendilerine herhangi bir işlem uygulanmadı. Deney grubunda ise, değişik süreler (15, 21 ve 30 gün) için 12'şer hasta olmak üzere, kompozit (Miradopt - Hibrid Kompozit -

Johnson & Johnson) ve amalgam (Lumicon - Klasik amalgam - Bayer) için toplam 36'şar hasta ayrıldı.

2. Dolgu işlemleri ve örneklerin elde edilmesi :

Değişik sürelerle göre sınıflandırılan ve dişetleri sağlıklı olarak saptanmış hastaların dişeti ceplerine, taşacak biçimde, araştırma için seçilmiş iki materyalimizden birisi, konuldu. Süreleri sonunda, taşkın saha kenarındaki dişeti, bisturi yardımıyla ± 10 mg oranında kesilerek alındı ve deney tüpüne konularak ağız kapatıldı ve hemen derin dondurucu (-20°C) içinde beklemeye alındı.

Kontrol grubundan da benzer biçimde alınan örnekler, derin dondurucuda toplandı.

3. PGE₂ düzeylerinin tayini :

Toplanan bütün örneklerdeki PGE₂ benzeri madde tayini, bioassay yöntemi ile, G.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında aşağıda açıklandığı biçimde gerçekleştirildi.

Prostaglandin benzeri maddelerin (PG-bm) ekstraksiyonu için Gilmore ve arkadaşları (7) ve Autore ve arkadaşları (2) tarafından ortaya konan yöntemden yararlanılarak, işlem gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, derin dondurucu içindeki örnekler alınarak saat camında hassas olarak tartılmış ve makasla ince parçacıklar halinde doğrandıktan sonra, homojenizasyon tüpüne alınmış ve üzerine 1 : 2 oranında 1 M (mol) HCl (Merck) ilave edilip, teflon başlıklı homojenizatör ile iyice homojenize edilmiştir. Bu karışım daha sonra santrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 1 ml etil asetat (Merck) ilave edilmiştir. Karışım vorteks yardımıyla iyice karıştırıldıktan sonra, 30 dakika ve 3000 g de santrifüje edilmiş ve faz ayrılması sağlanmıştır. Üstte kalan etil asetat fazı 1 cc.'lik cam enjektör yardımıyla, çok dikkatli bir biçimde başka bir tüpe alınmıştır. Kalan karışıma 1 ml etil asetat daha ilave edilmiş ve tekrar vorteks ile karıştırılmıştır. 30 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki etil asetat fazı alınarak, önceden alınan etil asetat fazı ile birleştirilmiştir. Etil asetat, azot gazı altında uçurulmuştur. Bioassay yapılmadan hemen önce, tüplere 0.5 ml krebs çözeltisi ilave edilip, vorteksle iyice karıştırılarak çözülmüştür. Bu çözeltiden belirli miktarlarda dokuya verilmiştir.

PG-bm miktar tayininde, PG'lerin çok küçük miktarına duyarlı olan sıçan mide fundus şeridi, bioassay preparatı olarak kullanılmış-

tır. Bioassay için kullanılan her iki ağırlıktaki (200-300 g) sıçanlar, başlarına sert bir cisimle vurulup hemen boğazları kesilerek öldürülmüştür. Karın bölgesi açıldıktan sonra, midenin fundus kısmı kesilerek çıkarılmış ve içinde krebs çözeltisi olan bir petri kutusuna konulmuştur. Sonra Vane'in (25) açıkladığı biçimde, sıçan mide fundus şeritleri hazırlanmıştır. Şeritler izotonik yazdırım için 1 g ağırlığına karşı, önden yazdırıcı levye sistemine, kasılma boyları kimografa yazdırılmak amacıyla asılmıştır. Bioassay sırasında kullanılan krebs çözeltisi (g/l) : NaCl 9.00, KCl 0.42, KH₂PO₄ 0.16, NaHCO₃ 2.10, CaCl₂ 0.28, MgSO₄.7H₂O 0.29, glukoz 2.10, sürekli olarak % 51'lik CO₂ + % 95'lik O₂ gaz karışımı ile havalandırılmıştır. Krebs çözeltisi içine, PG-bm miktar tayini için 0.1 ug/ml atropin sülfat (Sigma), 0.2 ug/ml propranolol hidroklorid (Sigma), 0.1 ug/ml mepiramin maleat (May Beaker), 0.5 ug/ml fentolamin (Regitine) (Ciba-geigy), 0.1 ug/ml metizerjit hidrojenmaleat (Sandoz), 5 ug/ml indometazin (Sigma) ilave edilmiştir. Bu antagonistler, ekstraksiyon sırasında karışabilecek olan, asetilkolin, adrenalin, noradrenalin, histamin ve serotonin gibi maddelerin bioassay sırasındaki etkilerini ortadan kaldırmaktadır. İndometazin ise bioassay dokusunun duyarlılığını arttırmak için ilave edilmiştir.

Kullanılan PGE₂ standartlarının çözeltileri, krebs ile hazırlanmıştır. Bioassay sırasında PGE₂'nin artan dozları ile kasılmalar kaydedilmiştir. Daha sonra krebs ile çözülmüş ekstraktan belirli hacimlerde banyoya ilave edilerek, kasılmalar yazdırılmıştır. Standardın çeşitli dozlarına karşı elde edilen cevapların ortalamaları kullanılarak regresyon eğrisi çizilmiştir.

Ekstraktın belirli miktarlarına karşı elde edilen kasılma boyu, ordinatta bulunarak regresyan eğrisi üzerine işaretlenmiş ve bu noktadan absise inilerek, bulunan değerden hareketle miktar tayinine geçilmiştir.

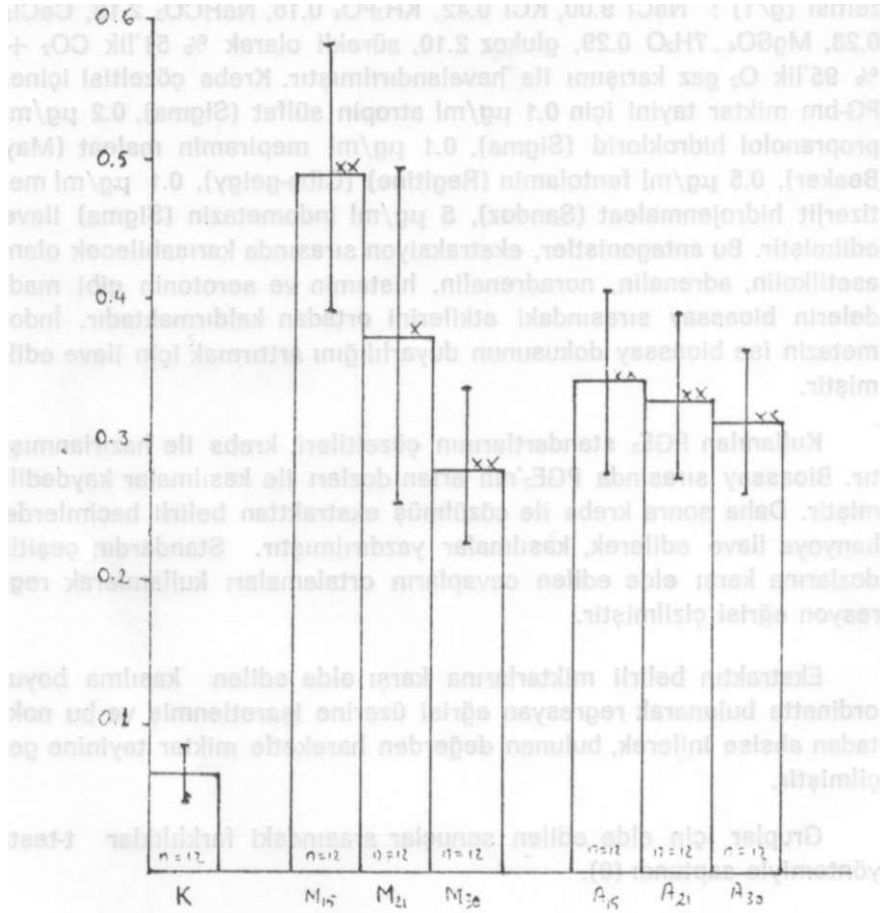
Gruplar için elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıklar t-testi yöntemiyle saptandı (9).

BULGULAR

Araştırmamızda kullanılan amalgam (Lumicon) ve kompozit (Miradap) dolgu materyallerinin dişeti cebi içine taşırılmalarını takiben,

15, 21 ve 30 gün sonunda yapılan biyopsilerin, prostaglandin aktivitesi yönünden incelenmesi sonucu elde edilen veriler Tablo 1 ve 2'de sunulmuştur. Yapılan istatistiksel incelemelerde, Miradapt grubundaki 15 günlük sonucun kontrol grubundaki sonuç ile $p < 0.001$ düzeyinde, 21 günlük sonucun $p < 0.05$ düzeyinde ve 30 günlük sonucun $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı farklılıklar gösterdiği saptanmıştır.

Deney sonuçları Şekil 1'de toplu olarak gösterilmiştir.



ŞEKİL 1. Kontrol ve deney gruplarının ortalama değerleri

Dik çizgiler ortalamaların standart hatasını (S_n) göstermektedir.

- x Kontrol grubuna göre $p < 0.05$
- xx Kontrol grubuna göre $p < 0.001$

K = kontrol grubu, M = Miradapt grubu

A = amalgam (Lumicon) grubu

n = denek sayısı

Aynı istatistiksel incelemeler, Lumicon grubundaki 15 günlük sonucun kontrol grubundaki sonuç ile $p < 0.001$ düzeyinde, 21 günlük sonucun $p < 0.001$ düzeyinde ve 30 günlük sonucun $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı farklılık gösterdiğini açıklamıştır.

Her iki grupta da, hem kendi bünyelerindeki süreler arasında hem de karşı grubun değişik süreleri arasında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı bir fark bulunamamıştır.

TABLO 1. Kontrol ve Miradapt grubunun t-testi verileri

	K ($\mu\text{g/g}$)	M15 ($\mu\text{g/g}$)	M21 ($\mu\text{g/g}$)	M30 ($\mu\text{g/g}$)
	0.014	0.260	0.372	0.467
	0.197	0.815	0.352	0.269
	0.028	1.042	0.386	0.283
	0.020	0.194	0.053	0.196
	0.074	0.268	0.108	0.785
	0.085	0.588	1.571	0.191
	0.037	0.270	0.149	0.137
	0.175	0.381	0.121	0.224
	0.028	1.052	0.137	0.250
	0.064	0.204	0.425	0.207
	0.023	0.178	0.390	0.180
	0.042	0.598	0.420	0.195
$\sum X =$	0.587	5.856	4.488	3.384
$\bar{x} =$	0.066	0.488	0.374	0.282
$S_h =$	∓ 0.018	∓ 0.094	∓ 0.116	∓ 0.052

K = kontrol grubu, (M(15, 21, 30) = Miradapt'ın farklı süreleri (gün)
 $\sum X$ = toplam, \bar{x} = ortalama, S_h = standart hata, n = denek sayısı

TABLO 2. Kontrol ve Lumicon grubunun t-testi verileri

K ($\mu\text{g/g}$)	A15 ($\mu\text{g/g}$)	A21 ($\mu\text{g/g}$)	A30 ($\mu\text{g/g}$)
0.014	0.130	0.291	0.414
0.197	0.475	0.725	0.440
0.028	0.291	0.256	0.727
0.020	0.429	0.195	0.388
0.074	0.569	0.275	0.172
0.085	0.162	0.297	0.125
0.037	0.765	0.157	0.189
0.175	0.102	0.196	0.178
0.028	0.255	0.425	0.301
0.064	0.292	0.675	0.295
0.023	0.545	0.350	0.368
0.042	0.115	0.145	0.210
$\epsilon x =$ 0.787	4.128	3.984	3.804
$\bar{x} =$ 0.066	0.344	0.332	0.317
$S_h = \mp 0.018$	∓ 0.061	∓ 0.055	

K = kontrol grubu, A (15, 21, 30) = Lumicon'un farklı süreleri (gün)
 ϵx = toplam, \bar{x} = ortalama, S_h = standart hata, n = denek sayısı

TARTIŞMA

Prostaglandin E2 nin bir iltihap mediatörü olduğu birçok araştırmacı tarafından açıklanmıştır (19, 22, 26). Uygulama öncesi yapılan kontrollarda dişeti (çalışma bölgesi) sağlıklı bulunan hastalarımızdan alınan biyopsi anında dişeti cebinden çıkan iltihabi eksüda, bu araştırmacıların bulguları ile aynı doğrultudadır.

Araştırmamızda, herhangi bir işlem yapılmamış sağlıklı dişetinden alınan örneklerdeki (kontrol grubu) PGE2 düzeyinin, taşkın dolgu yapılan bölgedeki dişetinden alınan örneklere (deney grubu) göre çok düşük seviyelerde kalması, stimüle edilen dişetinde PGE2 seviyesinin yükseldiğini ve buna bağlı olarak iltihabi olayların görüldüğünü ileri süren araştırmacıların bulgularını desteklemektedir (5, 6, 12, 21, 29).

PGE2 nin kemik erimesini hem in vitro (17), hem de in vivo (14) stimüle ettiği gösterilmiştir. Araştırmamızda, PGE2 düzeyinin her iki dolgu materyali için de artan sürelerle göre düşmesi, bu konuda bir çelişki yaratmaktadır. Bu çalışmada PGE2 nin kemik erimesi üzerindeki etkinliği araştırılmamıştır. Ancak, değerlerin daha uzun süreli ve daha kapsamlı çalışmalarla incelenmesi halinde, bu tür soruların aydınlanabileceği sanılmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1 — Anderson, G. : The Prostaglandins, Conn. Med., 40 : 663, 1976.
- 2 — Autore, G., Capasso, F. and Mascolo, N. : Phenolphthalein Stimulates the Formation of Histamine, 5-hydroxytryptamine and Prostaglandin-Like Material by Rat Jejunum, Ileum and Colon. Br. J. Pharmac, 81 : 347-349, 1984.
- 3 — Bergström, S. : Isolation, Structure and Action of Prostaglandins. In Prostaglandins : Proceedings of the Second Nobel Symposium, Ed. S. Bergström, B. Samuelsson, pp. 21-30, pp. 21-30, New York, London and Sydney : Wiley, 1966.
- 4 — Dewhirst, F.E., Moss, D.E., Offenbacher, S. and Goodson, J.M. : Levels of Prostaglandin E₂, Thromboxane and Prostacyclin in Periodontal Tissues. J. Period. Res., 18 : 156-163, 1983.
- 5 — El Attar, T.M.A. : Prostaglandin E₂ in Human Gingiva in Health and Disease and its Stimulation by Female Sex Steroids. Prostaglandins, 11 : 331-341, 1976.
- 6 — El Attar, T.M.A. : Prostaglandins in Gingiva of Patients with Periodontal Disease. J. Periodontol., 52 : 16-19, 1981.
- 7 — Gilmore, N., Vane, J.R. and Wyllie : Prostaglandins Released by the Spleen. Nature, 218 : 1135-1140, 1968.

TAŞKIN DOLGULARDA PGE,

- 8 — Goldhaber, P., Rabadjiji et al : Bone Resorption in Tissue Culture and its Relevance to Periodontal Disease. JADA, 87 : 1027, 1973.
- 9 — Goldstein, A. : Quantitative Data (6th Ed.). Biostatistics : An Introductory Text. pp. 34-92. The MacMillan Company, NY., 1968.
- 10 — Goodson, J.M. : PG's : Potential Mediators of Periodontal Disease. J. Dent., Res., 1 ADR Abs., 1972.
- 11 — Goodson, J.M., Dewhirst, F.E. and Brunetti, A.: Prostaglandin E₂ Levels in Human Gingival Tissue. J. Dent. Res. Progr. and Abst., 52 : 496, 1973.
- 12 — Goodson, J.M., Dewhirst, F.E. and Brunetti, A.: PGE₂ Levels and Human Periodontal Disease, Prostaglandins, 10: 811, 1974.
- 13 — Goodson, J.M., Dewhirst, F.E. and Brunetti, A. : PGE₂ Levels and Human Periodontal Disease, Prostaglandins, 6 : 81-85, 1974a.
- 14 — Goodson, J.M., Mc Clatchy, K. and Revell. C. : Prostaglandin-induced Resorption of the Adult Rat Calvaria. J. Dent. Res.. 53 : 670-677, 1974b.
- 15 — Harris, M., Jenkins, M.V. and Wills, M.R. : Prostaglandin Production and Bone Resorption by Dental Cysts, Nature. 245 : 213-215, 1973.
- 16 — Harton, R. : Leucocytes and Bone Resorption. Sci., 177, 1975.
- 17 — Klein, D.C. and Raisz, L.G. : Prostaglandins : Stimulation of Bone Resorption in Tissue Culture. Endocrinology, 86: 1436-1440, 1970.
- 18 — Kuehl, F.A.Jr. : Prostaglandins, Cyclic Nucleotides and Cell Function. Prostaglandins, 5: 325-340, 1974.
- 19 — Kuehl, Jr. F.A. and Egan, R.W. : Prostaglandins. Arachidonic Acid, and Inflammation. Science, 210 : 978-984, 1980.
- 20 — Kunze, H., Vogt, W. : Significance of Phospholipase A for Prostaglandin Formation. Ann. NY Acad. Sci., 180 : 123-25. 1971.
- 21 — Löning, T., Albers, H.K., Lisboa, B.P., Burkhardt, A and Caselitz, J. : Prostaglandin E₂ and the Local Immune Response in Chronic Periodontal Disease. J. Periodont. Res., 15 : 525-535, 1980.
- 22 — Moncada, S., Grylewski, R., Bunting, S. and Vane, J.R. : An Enzyme Isolated from Arteries Transforms Prostaglandin Endoperoxides to an Unstable Substance That Inhibits Platelet Aggregation. Nature, 263 : 663-665, 1976.
- 23 — Raucher, F. : PG's in Clinical Dentistry. NYDJ, 47 : 267-70, 1977.
- 24 — Türker, R.K. : Prostaglandinler- Sahasında Yeni Gelişmeler. Tübitak Sempozyumu, 1979.
- 25 — Vane, J.R. : A Sensitive Method for the Assay of 5-hydroxytryptamine. Br. J. Pharmac. 12 : 344-349, 1957.

- 26 — Vane, J.R. : Prostaglandins as Mediators of Inflammation. In : Advances in Prostaglandins and Thromboxane Research, Samuelsson, B and Paoletti, R, eds., Vol 2., pp. 791-801. N.Y. Raven Press, 1976.
- 27 — Von Euler, U.S. Kay, 3e bkz. pp. 16-20, 1966.
- 28 — Week, J.R. : Prostaglandins, Ann. Rev. Pharmacol. 12: 312, 1972.
- 29 — Wong, P.Y.K., Ross, J.R. and Sticht, F.D. : Metabolism of Arachidonic Acid in Inflamed Gingivae I. Formation of 6-keto-prostaglandin F, a. J. Dent. Res., 59 : 670-674, 1980.