

PERİODONTAL TEŞHİSTE HASTALIĞA AİT POTANSİYEL MARKERLAR

Dr.Dt.Deniz ÇETİNER*

Dt. Meryem Umay ENGEL *

ÖZET

1980'lerin sonunda var olan diagnostik yöntemlerdeki yetersizlikler ve periodontal hastalık ile ilgili biyolojik bilgiler arttıkça periodontal hastalığın potansiyel markerlarını saptamaya yönelik araştırmalar yoğunluk kazanmıştır. Potansiyel biomarkerların tayini, periodontal diagnostik test sistemlerinin klinik kullanımı açısından oldukça önemlidir. Ancak bu markerların klinik değerlendirmelerine geçmeden önce hastalık oluşumundaki rolünün iyi araştırılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mikrobiyoloji, İnflamasyon, Proteolitik/hidrolytik enzimler, Doku yıkımı, Diagnostik kitler.

POTENTIAL MARKERS OF DISEASE IN PERIODONTAL DIGNOSIS

ABSTRACT

In the late 1980's insufficiencies in diagnostic methods and advanced acknowledgments in the biology of periodontal disease led to determine the potential markers of periodontal disease. Designating the potential biomarkers in very critical for clinical use of periodontal diagnostic test systems. However, the role of these markers in periodontal disease process should be identified before the clinical evaluation of these markers.

Key Words: Microbiology, Inflammation, Proteolytic/hydrolytic enzymes, Tissue degradation, Diagnostic kits.

Kronik periodontitis mikrobiyal dental plağın (MDP) neden olduğu kronik iltihabi bir hastalıktır. Bununla birlikte plağın etkisi lokal ve genel birçok faktörle belirlenir. Gingivitis ve periodontisteki bakteriyel flora oldukça kompleksir ve hem spesifik hem de non-spesifik plak teorilerini uygunluk gösterir. Modern görüşler gingivitisde non-spesifik teoriyi kabul etmiş ve periodontitis için ise tek bir bakteriyel patojen fikrini yavaş yavaş terketmeye başlamışlardır. Araştırmalar periodontitislerde 6-12 bakteri türünün etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Bunlar putative (varsayılan) periodontal patojenler olarak adlandırılmışlardır.^{4,7} Periodontal hastalıkla ilgili başlıca bakteriler; Porphyromonas Gingivalis, Prevotella intermedia, Bacterioides Forsythus, Capnocytophaga Ochracea, Eikenella Corrodens, Camphylobacter Recta, Fusobacterium Nucleatum ve Treponema Denticola'dır.^{4,39,43,55}

Mikrobiyolojik tanı yöntemleri ile, hastalıkla ilişkili bir ya da birden fazla patojen saptanabilmektedir. Fakat subgingival floradaki hangi patojenin hastalığa neden olduğunu ya da hastalığın hangi evresinden sorumlu olduğunu tespit etmek imkansızdır. Bakteri türlerinin saptanması için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır.^{3,39} Bunlar; *karanlık saha ya da faz kontrast mikroskopisi, kültür teknikleri, immünolojik yöntemler, DNA problemler, enzim esaslı yöntemler* şeklinde sıralanabilir.

Karanlık saha ya da Faz kontrast mikroskopisi: En önemli avantajı örnekteki bakteri sayısının saptanabilmesidir. Dezavantajı ise spesifik mikroorganizmanın ve bu mikroorganizmanın antimikrobiyal ajanlara karşı hassasiyetinin tanımlanamamasıdır.^{7,38}

Kültür teknikleri: Mikroorganizmanın yapısını analiz etmek için kullanılır. Antimikrobiyallere karşı hassasiyetleri tespit edilebilir. Ancak günümüzde tüm bakteri türleri kültüre edilememektedir ve kültüre edilen mikroorganizmaların oranı cep içerisindeki oranı yansıtmamaktadır. Ayrıca seçici medyanın kullanımı üreyebilen türleri kısıtlamaktadır.⁷

İmmünolojik yöntemler: İmmünofloresan ya da ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) gibi çok spesifik immünolojik tekniklerin kullanımı ile bakteri türleri tanımlanabilir. Bu tekniklerde, seçilmiş bakteriyel antijenlere karşı spesifik antikorlar kullanılır ve floresan marker ya da bir enzim yardımı ile direkt ya da indirekt olarak antikor tespit edilir. Bu teknikler oldukça spesifiktir ve sadece seçilen antijene karşı uygun bir antikor kullanılarak bakteri türü tanımlanabilir.^{4,7}

DNA problemler: Bu teknik bir örnekteki birkaç yüz hücreyi saptayabilir. Bununla birlikte kantitatif bir veri elde edilemez ve uygulanabilirliği sınırlıdır. Oldukça spesifiktir.^{7,41}

* Gazi Üniv Diş Hek. Fak. Periodontoloji Anabilim Dalı

Enzim esaslı yöntemler: MDP örneği sadece spesifik bir enzimle hidrolize olabilen bir substratla muamele edilir. Örneğin tripsin-benzeri proteaz (P.Gingivalis daha az oranda da B.Forsythus ve Treponema Denticola'nın açığa çıkardığı bir enzim) tanımlanabilir. Bu türlerin bazıları kültürde az üremelerine rağmen, enzim analizleri ile hızlı ve ucuz bir şekilde saptanabilir. Bu yöntemin en önemli dezavantajı kantitatif verilerin yetersizliği ve MPD örneğinde bulunan birden fazla bakteri türünün hangisinin enzim ürettiğinin saptanamamasıdır.^{40,41}

Cep Sıvısındaki Bakteriyel Proteazlar

Bakteriyel proteazlar subgingival floradan kaynaklanır ve cep sıvısında tanımlanabilir. Seçilmiş biyokimyasal yaklaşımlar iki proteaz için geliştirilmiştir; dipeptidilpeptidaz (DPP) ve tripsin-benzeri proteazlar. Tripsin-benzeri proteazlardan biri cystein proteinazdır ve arg gingivain veya arg-gingipain olarak adlandırılan enzim karakterindedir. Bu enzimler ile klinik indeksler arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır.^{8,12-14} Bakteriyel markerlerin kullanıldığı periodontal diagnostik testlerin avantajları ve dezavantajları aşağıda belirtilmiştir.^{34,45}

Avantajları;

1. Longitudinal çalışmalarda bazıları hastalık aktivitesinin belirleyicisi gibi görünebilir.
2. Kullanımı kolaydır.
3. Chairside test kitlerindeki sonuçlar kısa süre için uygundur.
4. Chairside test kitleri görüntülü sonuç verir. Sonuçları hastaya gösterilebilir.

Dezavantajları;

1. Hastalığın polimikrobiyal yapısı karmaşıktır.
2. Birçoğu hastalık aktivitesi için belirleyici değildir.
3. Sadece araştırılan spesifik bakteri saptanabilir.
4. Bazıları özel laboratuvar gerektirir.
5. Pahalıdır.
6. Örneklenecek bölgeler önceden belirlenmelidir.

İmmün ve inflamatuvar cevaplar gingival dokulardaki enfeksiyonun önlenmesinde ve kronik periodontitisten korunmada çok önemli rol oynar. Diğer taraftan bu immün ve inflamatuvar cevaplar da doku hasarına neden olur.⁴⁵ İnflamatuvar ve immün hücrelerden salınan maddelerin bir çoğu dişeti oluk sıvısında (DOS) bulunmaktadır. Cep sıvısında örnekleme kolaydır ve bu maddeler kolaylıkla analiz edilebilirler. Örnek alınırken kullanılacak kağıt şerit ya da mikrotüplerin yerleştirilmesi ve süresi çok önemlidir. Sıvının

içeriği bozulabilir ya da cep sıvısı yerine damak eksudası toplanabilir.

Periodontal patolojideki potansiyel immün ve inflamatuvar mediatörler,^{34,51}

- İmmün cevapta oluşanlar; *Total Ig miktarı Ig ve komplemanlar,*

- İnflamatuvar cevapta oluşanlar; *Araşidonik asit türevleri; PGE₂, sitokinler (IL-1, IL-2, IL-6, TNF α gibi.)*

Hücre Ölümü ve Doku Degredasyonunun Potansiyel Markerları

Periodontal hastalık aktivitesi sırasında hem cepteki epitelyal hücrelerde hem de bağ doku degradasyonu olan bölgelerdeki bağ dokusu hücrelerinde hasar olur. Aktif periodontal dokular bu hasarı yapan inflamatuvar hücrelerle kaplıdır. Aktif periodontal hastalıklarda hasar oluştuğunda hücrelerden salınan sitosolik enzimler ve onların konsantrasyonları hücre ölüm miktarını belirler. Bu enzimlerden aspartat amino transferaz (AST) ve laktat dehidrojenaz (LDH) hücre ölümü ve doku yıkımının değerlendirilmesinde diagnostik amaçla tıpta kullanılmaktadır. Bu enzimlerin iltihaplı veya inflamasyonlu periodontal dokulardan cep içine geçtikleri tahmin edilmektedir.²⁶ AST ve LDH, hücre ölümü sırasında salınan si- toplazmik enzimlerce çözülebilirler. LDH cross-sectional çalışmalarda cep derinliği, gingival indeks ve plak indeksi ile ilişkili bulunmuştur. Uzun dönemli bir çalışmada da periodontal aktiviteyle ilişkisi saptanmıştır.²⁶ Aynı çalışmalarda β glukuronidaz da değerlendirildiğinde bu enzimin periodontal aktivite ile daha fazla ilişkili olduğu belirlenmiştir. Sonuçta LDH hastalık aktivitesinin belirleyicisi olarak kabul edilmiştir.^{26,36} AST serum ve serobrosipinal sıvıda doku nekrozu ve hücre ölümünün bir indikatörü olarak kullanılmaktadır. Köpeklerde DOS'de AST düzeylerinin deneysel periodontitisle arttığı gösterilmiştir.⁵ İnsanlardaki deneysel gingivitis çalışmalarında da gingival inflamasyonla önemli derecede ilişkili bulunmuştur.⁵⁰ Hastalığın aktif olduğu bölgelerde düzeyleri yüksektir. Cross-sectional bir çalışmada hastalık şiddetinin klinik ölçümleri ile ilişkili olduğu kaydedilmiştir. Longitudinal çalışmalarda DOS AST düzeylerinin ataşman kaybıyla ilişkisi olduğu tespit edilmiştir.^{6,28,49} Diagnostik açıdan önemli olan bu enzimle ilgili, bir kit geliştirilmiştir.^{26,48}

Aktif periodontitiste bağ doku degradasyonu ile ortamda bu dokuların komponentleri görülür. Bunlar; kollagenler, proteoglikanlar, hyaluronan, fibronetkin ve laminindir. Kollagen yıkımıyla hidroksiprolin, proteoglikan yıkımıyla gliko-

zaminoglikanlar (GAG), GAG yıkımıyla heparan sülfat, kondroitin sülfat-4, kondroitin sülfat-6 açığa çıkar ve bunlar cep sıvısında tespit edilebilirler.

Yumuşak Doku Degradasyon Ürünleri

Fibronektin: Serum ve bağ doku matriksinin normal komponentlerinden biridir. Bağ dokuda hücre adezyonuyla ilişkilidir. Cep sıvısında bulunur. Fibronektinle ilgili insanlarda yapılan cross-sectional çalışmalarda bozulmuş fibronektin moleküllerinin sağlıklı bölgelerde fazla olduğu tespit edilmiş ve hastalıklı bölgelerin tedavisinden sonra bozulmamış molekül sayısında artış kaydedilmiştir.⁴² Bu moleküle ilgili uzun dönemli çalışmalar yoktur.

Hidroksiprolin: Kollagen degradasyonu sırasında salınır. Deneysel periodontitis sırasında köpeklerin cep sıvısında gösterilmiştir.⁵³ Fakat bu peptidin de insanlardaki yıkıcı periodontitislere ilişkisini gösteren bilgi yoktur.

GAG: Bağ dokudaki hasar genellikle proteoglikanlarda olur. Proteoglikanlar GAG moleküllerinden oluşur. Dişeti ve periodontal ligamentin başlıca proteoglikanları hyaluronik asit, heparan sülfat, dermatan sülfat ve kondroitin sülfat-4'tür.^{1,26} Kemik ve sementteki başlıca proteoglikan kondroitin sülfat-4'tür. GAG'larla ilgili yapılan klinik çalışmalarda hyaluronik asitin kronik gingivitisli hastalarda kondroitin sülfat-4'ün ise tedavi edilmemiş ileri periodontitisli hastalarda fazla görüldüğü bulunmuştur. Kondroitin sülfat-4 periodontal tedavi sonrasında tespit edilmemiştir.²⁶ DOS GAG'larıyla periodontal hastalık ilişkisini gösteren uzun süreli bir çalışma yoktur.

Kemik Rezorbsiyonunun Potansiyel Markerları

Çeşitli kemik morfojenik proteinleri kemik mineralizasyonunda rol alırlar. Bazı bağ doku proteinleri de bu işlemlerde önemli rol oynayabilirler. Bunlardan bazıları kemik rezorbsiyonunun dolayısıyla da periodontal hastalık aktivitesinin markerleri olabilirler. Kemik dokusunda bulunan bu spesifik proteinler; Osteonektin, kemik fosfoprotein, osteokalsin, Tip I kollagenin telopeptitleridir.

Osteonektin: Mineralizasyonun başlangıç fazında önemli bir rol oynadığı düşünülen kemik matriksinin bir komponentidir. Osteonektin ve kemik fosfoproteini cep sıvısında tespit edilmiştir. Toplam miktarlarının cep derinliğinin artmasıyla arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle periodontal hastalık şiddetiyle ilişkili olabilirler.²² Her iki proteinle ilgili yapılmış cross-sectional ya da longitudinal bir çalışma rapor edilmemiştir.

Osteokalsin: Mineralize dokulardaki en bol non-kollagenöz proteindir. Periodontitisli hastalarda klinik parametrelerle ilişkili bulunmuştur. İnflamasyon düzeyiyle ilişkileri gösterilmiştir. Cep sıvısındaki konsantrasyonları serum düzeylerinden 10 kat fazladır. Hastalık aktivitesiyle ilişkisini gösteren uzun süreli bir çalışma yoktur. Son yıllarda yapılan iki cross-sectional çalışma DOS'deki osteokalsin düzeyi ile periodontal hastalık aktivitesi arasındaki ilişkiyi göstermiştir. Bu çalışmaların sonuçlarına göre osteokalsin miktarları gingivitisli hastalarda klinik parametrelerle önemli derecede ilişkili bulunmazken periodontitisli hastalarda ilişkili kurulmuştur.^{33,44} Son yıllarda yapılan bir hayvan çalışmasında da deneysel periodontitiste DOS'deki osteokalsin miktarının arttığı gösterilmiştir.²⁷ Osteokalsin oranlarının tespitiyle, aktif kemik kaybı önceden tespit edilebilir. Aktif kemik kaybının bir prediktörü olabilir. Bu kliniğe de geçirilebilir.

Tip I Kollagenin Telopeptitleri: Tip I kollagen, kemiğin organik matriksinin % 90'ını yapar. Son yıllarda miksedem, tritoksikoz, primer hiperparatiroidizm ve post menapozal osteoporozle ilişkili bulunmuştur. Tip I kollagenin telopeptitleri periodontitisli hastaların cep sıvılarında ve köpeklerde deneysel periodontitislere tespit edilmiştir.²⁷ Cross-sectional tek bir insan çalışması vardır. Toplam miktarı; cep derinliği, radyolojik kemik kaybı, papiller kanama indeksi ve plak indeksiyle ilişkili bulunmuştur. Periodontal tedaviyle bu düzey azalmıştır.⁵⁴ Gelecekte alveoler kemik kaybının bir markeri olabilir. Klinik kullanımı bu konuda yapılacak uzun süreli insan çalışmalarına bağlıdır. Osteonektin tespitinde nitrosellülöz şeritler, osteokalsin ve Tip I kollagenin telopeptitlerinin tespitinde klasik kağıt şeritler kullanılır. Osteokalsin ELİSA ya da radyoimmünassayla, osteonektin ve fosfoprotein ELİSA ile telopeptitler radyoimmünassayla değerlendirilir. Bunların hiçbirinin hastalık aktivitesini önceden gösterdikleri tespit edilmemiştir.²²

İnflamatuvar Hücrelerden Orijin Alan Proteolitik ve Hidrolitik Enzimler

İltihap, vücuttaki enfeksiyonlara karşı önemli koruma görevleri olan PMN, makrofajlar, lenfositler ve mast hücrelerinin akümülyasyonuna yol açar. Bu hücrelerin lizozomları içinde yıkıcı enzimler vardır.^{9,10,31} Bu enzimler salındıklarında gingival doku komponentlerini de bozarlar ve komşu hücre ve dokularda da hasar oluşabilmektedir. En önemli hasar bağ doku komponentlerinde olur. Bunların en önemlileri kollagen ve proteoglikanlardır.²³

<i>Proteolitik enzimler</i>	<i>Hidrolik enzimler</i>
- Kollagenaz	- Arylsülfataz
- Elastaz	- β -glukuronidaz
- Katepsin L	- Alkalen fosfataz
- Katepsin B	- Asit fosfataz
- Katepsin D	- Lizozim
- Triptaz	

Kollagenazlar: Kollajeni degrade eden metaloproteinaz ailesinin bir üyesidir. Makrofaj, nötrofil, fibroblast ve keratinositlerden sentez edilir. İnsanlardaki deneysel gingivitis çalışmalarında kollagenaz miktarı ile inflamasyon şiddeti arasında ilişki saptanmıştır.²⁴ Köpeklerde oluşturulan deneysel periodontitislerde de ataşman kaybı ile ilişkili bulunmuştur.³² İnsan periodontitislerinde DOS'de kollagenaz aktivitesinin dişeti iltihabı şiddetiyle, cep derinliğiyle ve alveoler kemik kaybıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir.⁵⁶ Hastalıklı bölgelerde enzim düzeyleri yüksektir. DOS'de kollagenaz düzeyleri ve periodontal ataşman kaybıyla ilgili uzun süreli tek bir çalışma vardır.³⁷ Aktif kollagenaz ölçümü ataşman kaybı değerlendirmeleri için çok uygun olmasa da bunu değerlendiren ticari bir kit vardır.²⁴

Sistein Proteinazlar: Katepsin B ve L asit pH'da etkilidir. Özellikle kemik rezorpsiyonu sırasında aktive olurlar. Fibroblastlar, makrofajlar ve osteoklastlar tarafından üretilirler.^{9,25,29} Ataşman kaybıyla ilişkili bulunmuştur. Katepsin B ve L'nin cep sıvısındaki düzeylerinin gingival inflamasyon, cep derinliği ve kemik kaybıyla ilişkileri gösterilmiştir. Periodontal tedaviyi takiben düzeyleri azalmaktadır.^{18,19} Katepsin B aktivitesi ile periodontal ataşman kaybının ilişkisini gösteren tek bir uzun süreli çalışma vardır.²¹ DOS katepsin B miktarı gelecekteki progresif ataşman kaybının iyi bir prediktörü gibi gözükmektedir. Chairside kullanım için bir test sistemi geliştirilmiştir.

Aspartat Proteinazlar: Katepsin D gingival dokular ve DOS'de tespit edilmiştir. Artan dişeti iltihabı, cep derinliği, sondlanabilen ataşman düzeyi ve kemik kaybıyla istatistiksel olarak önemli ölçüde ilişkili bulunmuştur.²⁴ Periodontal ataşman kaybıyla proteinazın ilişkisini gösteren uzun süreli bir çalışma yoktur.

Serin Proteinazlar: Elastaz PMN'ler tarafından üretilir. Aktif elastaz biyokimyasal veya histokimyasal olarak tespit edilir. Kollagenazlar kollajenin terminal peptik bölgelerini degrade edemezler. Bunu elastaz yapar. Bu nedenle periodontal patolojide önemli rolleri vardır. DOS elastaz miktarının dişeti iltihabı, cep derinliği, sondlanabilen ataşman kaybı ve kemik kaybıyla ilişkisi saptanmıştır. Periodontal tedaviyle enzim

düzeyi azalır. Elastaz düzeyi sağlıklı bölgelerde hiç tespit edilemediği halde gingivitisli bölgelerde az da olsa yüksek bulunmuştur. Periodontitisli bölgelerde çok yüksek miktarlarda tespit edilmiştir.^{17,19} Enzimle ilgili uzun süreli çalışmalar yapılmıştır. Progresif ve nonprogresif bölgelerde total elastaz miktarı çok farklı bulunmuştur.^{15,47} DOS elastaz miktarı, gelecekteki progresif ataşman kaybı için iyi bir prediktör olabilir. Chairside kullanım için bir test sistemi geliştirilmiştir.²⁴

Triptaz: Biyokimyasal olarak ölçüldüğünde dişeti dokularında fazla kaydedilirken DOS'de az bulunmuştur. Mast hücrelerinde lokalizedir. DOS triptaz aktivitesi ataşman ve kemik kaybı bulunan hastalıkların klinik parametreleriyle ilişkilidir. Periodontal tedaviyle azalır.^{19,20} Uzun süreli bir çalışma yoktur.

Diipeptidilpeptidaz (DPP): DOS, DPP II ve IV ile hastalık şiddetinin klinik parametreleri ilişkili bulunmuştur. Periodontal tedaviyle azalır.¹⁶ Son yıllarda yapılan iki yıllık bir uzun süreli çalışmada DOS, DPP II ve IV'ün ataşman kaybı olan bölgelerde yüksek olduğu tespit edilmiştir.²⁴ DOS, DPP II ve IV düzeyleri gelecekte progresif ataşman kaybının iyi bir prediktörü olabilirler.

β -glukuronidaz ve Arylsülfataz: Bu enzimler lizozomaldır. PMN'lerde bulunurlar. Cross-sectional çalışmalarda dişeti iltihabı, cep derinliği ve alveoler kemik kaybıyla önemli derecede ilişkili oldukları saptanmıştır. Hastalıklı bölgelerde fazladır. Düzeyleri periodontal tedaviyi takiben azalır. Enzim düzeyleri cep derinliğinin artmasıyla artar. β -glukuronidaz subgingival floradaki spiroketler, P.Gingivalis, P.Intermedia ile ilişkilidir. Ataşman kaybı fazla olan bölgelerde fazladır.²⁴ β -glukuronidaz ile ilgili yapılan bir uzun süreli çalışmada DOS β -glukuronidaz aktivitesi ile ataşman kaybı arasında ilişki olduğu bulunmuştur.³⁵ Gelecekteki ataşman kaybının iyi bir prediktörü olabilir.

Alkalen Fosfataz: Kemik metabolizmasında rolü vardır. PMN'lerde bulunur. DOS'deki alkalen fosfatazla ilgili cross-sectional bir çalışmada periodontitisli hastalarda cep derinliğiyle önemli bir ilişkisi saptanırken kemik kaybıyla ilişkisi tespit edilmemiştir.²⁴ Uzun süreli bir çalışmada DOS enzim düzeyleriyle periodontal ataşman kaybı arasında ilişki bulunmuştur.² Belirleyici değerleri düşüktür.

Asit Fosfataz: İnflamatuvar hücrelerde vardır. DOS'de tespit edilmiştir. Cep sıvısındaki düzeyleri ile hastalık şiddet ve aktivitesi arasında bir korelasyon bulunmamıştır.^{2,24}

Myeloperoksidaz, Lizozim ve Laktoferrin: PMN'lerde bulunur. Cep sıvısında mevcuttur. Özellikle myeloperoksidaz periodontitisli bölgelerde fazladır. Periodontal tedaviyi takiben cep sıvısındaki miktarları azalır. Ancak klinik parametrelerle önemli bir ilişkisi tespit edilmemiş ve hiçbirinde diagnostik potansiyel bulunmamıştır.⁵² Yapılan bir çalışmada lokalize juvenil periodontitisli hastalarda, gingivitis veya erişkin periodontitisli hastalara göre DOS lizozim düzeyleri yüksek bulunurken laktoferin düzeylerinde fark saptanmamıştır.^{24,46}

Ticari Diagnostik Kitler

Prognostik (Densply): Bu sistem elastazların DOS örneklerinde varlığını tespit eder. Özel kağıt şeritlerle çalışılır. Eğer elastaz varsa U.V. ışık kutusunda yeşil renk verir.^{24,25}

Periocheck (ACTech): DOS'deki kollagenaz gibi nötral proteinazların varlığını tespit eder. Kağıt şeritle DOS örnekleri alınır, FDA onaylıdır. Test kalitatifdir. PMNL(polimorfo nükleer lökosit) kollagenazları için spesifik değildir. Gerçekten de enzimlerin çok büyük bir bölümü bakteriyelle orijinli olabilir. Bu durum bu metodun en önemli dezavantajlarından biridir.²⁴

Periogard: AST enziminin saptanması amacıyla kullanılır. Bu enzim hücre ölümüyle ilgilidir. Hücre ölümü periodontal patogenezin önemli bir parçasıdır. AST seviyesi yıkıcı periodontal hastalığın erken döneminde oldukça yüksektir.^{7,24}

Perioscan: Chairside diagnostik test kitidir. P.Gingivalis, B.Forsytus ve bazı capnocytophaga türlerinin tespitinde kullanılır. Plak örnekleri alınır. Dezavantajı plak örneğine dayalı olması ve test edilen mikroorganizmaların hastalığa neden olduğunu varsaymasıdır. Bu tüm hastalar ve tüm bölgeler için geçerli değildir. Sonuçlar kalitatifdir. Operatörün renkli bölgeyi tayin etmesine dayanır.⁷

Evalusite: Yeni bir immünosay kitidir. Actinobacillus Actynomycetemscomitans, P.Gingivalis ve P Intermedia türlerinin tespitinde kullanılır. Subgingival plak örneklerinde bakılır. Test çok basamaktır. Sonuçların kesin kaydı yoktur. Kitler çok pahalıdır. Tüm bölgeler analiz edilemez. Sadece üç mikroorganizmanın hastalığa sebep olduğunu varsaymaktadır.⁷

Gelişmekte olan ticari diagnostik kitler

β -glukoronidaz için bir diagnostik kit Abbott laboratuvarlarında geliştirilmiştir. Histokimyasal bir substrat kullanılarak çalışılmaktadır. Sistein ve serin proteinazlarla ilgili Prototex ta-

rafından chairside kullanıma uygun bir test geliştirilmiştir. Bu sistemin avantajları; serin proteinaz, triptaz, elastaz ve DPP II ve IV, sistein proteinaz gibi farklı proteinazların tespiti için modifiye edilebilir. Örnekler normal kağıt şeritlerle toplanır. Renk tespit metotları dental pratikte kullanım için çok kolaydır. Özel cihazlara ihtiyaç göstermez. Bu sistem biokimyasal florometrik değerlendirmelerle kıyaslandığında doğru ve güvenilirdir. Renk sistemi floresandan daha hassastır.²⁵ İnflamatuar hücrelerden salınan bütün enzimler muhtemelen gingival inflamasyonla ilişkilidir. Özellikle hastalık aktivitesinin olduğu bölgelerdeki biomarkerler çok önemlidir. Bilhassa progressif ataşman kaybı olan bölgelerdeki markerları tespit edebilen kitler önümüzdeki yıllarda daha da gelişecektir.^{7,25,26,40} Diagnostik test kitlerinin avantaj ve dezavantajları aşağıda belirtilmiştir.^{7,11,22}

Avantajları

- Kathepsin B, elastaz, dipeptidilpeptidaz II ve IV, β -glukoronidaz uzun çalışmalarda hastalık aktivitesinin prediktifi olarak kabul edilmektedir. Bu testlerle bu enzimler bakılabilir.

-Kullanımları kolaydır. Özellikle renk tespit sistemleri kolaylık sağlar. Kısa sürede okunabilirler.

- İlgili diş bölgesini gösterebilirler.

Dezavantajları

- En önemli markerların seçimi şu andaki bilgilerle güçtür.

- Örnek bölgeleri ve alındıkları zamanın tespiti güçtür.

- Tanımlanan potansiyel markerlerden hiçbirisinin insan periodontitislerinde hastalık aktivitesinin belirleyici olduğunu gösteren uzun süreli bir çalışma yoktur.

- Tüm bölgelerin çalışılması mümkün değildir. Önceden seçilmiş bölgelerde çalışılır.

- Pahalıdır.

Gelecekte belirleyici diagnostik kitler getirilirse;

Şpesifik bölgeler tedavi edilebilir. Kalıcı hasarı önlenir. Yıkıcı hastalık durdurulabilir. Hastalığın ilerleyişi önlenir. Yüksek riskli hastalar tanımlanabilir. Periodontal tedavi izlenebilir. Kathepsin B, elastaz, β -glukoronidazın periodontal hastalık ilerleyişinin belirleyicileri olabilecekleri uzun süreli çalışmalarla gösterilmiştir. AST insanlarda yapılan uzun süreli çalışmalarda hastalık aktivitesiyle ilişkili bulunmuştur. Kollagenaz, triptaz, alkalen fosfataz, arysülfataz, myeloperoksidaz hastalık aktivitesiyle ilişkili olsa da belirleyici değildir. Diagnostik kit için de bu

önemlidir. Prediktör olacak elastaz, β -glukoronidaz, Katepsin B, dipeptidilpeptidaz II ve IV ile ilgili testler gelecekte daha çok kullanılacaktır. Böylece periodontal hastalıklar başlamadan önce ya da çok daha erken dönemlerde tespit edilebilecektir. Periodontal tedavi sonuçları da daha başarılı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Bartold PM. Proteoglycans in the periodontium. Structure, role and function. *J Periodontol Res* 1987; 22: 431-444.
2. Binder TA, Goodson JM, Socransky SS. Gingival fluid levels of acid and alkaline phosphatase levels. *J Periodont Res* 1987; 22: 14-19.
3. Bragd L, Dahlen G, Wikström M, Slots J. The capability of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacterioides gingivalis* and *bacterioides intermedius* to indicate progressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 1987; 14: 95-99.
4. Caranza FA. Glickman's Clinical Periodontology. Advanced Diagnostic Techniques. 1990: 523-540.
5. Chambers DA, Crawford JM, Mukherjee S, Cohen RL. Aspartate aminotransferase increases in crevicular fluid during experimental periodontitis in beagle dogs. *J Periodontol* 1984; 55: 526-530.
6. Chambers DA, Imrey PB, Cohen RL, Crawford JM, Alves MEAF, McSwiggan TAA. Longitudinal study of aspartate aminotransferase in human gingival crevicular fluid. *J Periodont Res* 1991; 26: 65-74.
7. Chapple IC. Periodontal disease diagnosis: Current status and future development. *J Dent* 1997; 25(1): 3-15.
8. Cox SW, Gazi MJ, Clark DT, Eley BM. Host tissue and porphyromonas gingivalis dipeptidylpeptidase activities in gingival crevicular fluid. *J Dent Res* 1993; 72: 705.
9. Cox SW, Eley BM. Trypsin-like activity in crevicular fluid from gingivitis and periodontitis patients. *J Periodont Res* 1989; 24: 41-44.
10. Cox SW, Kennett CN, Eley BM. Investigations into the cellular contribution of host tissue protease activity in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1987; 24: 424-431.
11. Daniel HF. Incorporating new techniques in periodontal diagnosis into training programs and patient care: A critical assessment and a plan for the future. *J Periodontol* 1992; 63: 870-877.
12. Eley BM, Cox SW. Bacterial proteases in gingival crevicular fluid before and after periodontal treatment. *Br Dent J* 1995; 178: 133-139.
13. Eley BM, Cox SW. Correlation between gingivain/gingipain and bacterial dipeptidylpeptidase activity in gingival crevicular fluid and periodontal attachment loss in chronic periodontitis patients. *J Periodontol* 1996; 67: 703-716.
14. Eley BM, Cox SW. GCF bacterial proteases before and after periodontal treatment. *J Dent Res* 1994; 73: 799-806.
15. Eley BM, Cox SW. A 2-year longitudinal study of elastase in gingival crevicular fluid and periodontal attachment loss. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 681-692.
16. Eley BM, Cox SW. Crevicular fluid dipeptidylpeptidase activities before and after periodontal treatment. *J Dent Res* 1992; 71: 622-628.
17. Eley BM, Cox SW. Gingival crevicular fluid inflammatory cell proteases at healthy, gingivitis and periodontitis sites. *J Dent Res* 1993; 72: 705-709.
18. Eley BM, Cox SW. Cathepsin B and L-like activities at local gingival sites of chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 499-504.
19. Eley BM, Cox SW. Cathepsin B/L-, elastase-, trypsin-, and dipeptidyl peptidase IV-like activities in gingival crevicular fluid: a comparison of levels before and after periodontal surgery in chronic periodontitis patients. *J Periodontol* 1992; 63: 412-417.
20. Eley BM, Cox SW. Cathepsin B/L-, elastase-, trypsin-, and dipeptidyl peptidase IV-like activities in gingival crevicular fluid: correlation with clinical parameters in untreated chronic periodontitis patients. *J Periodont Res* 1992; 27: 62-69.
21. Eley BM, Cox SW. The relationship between gingival crevicular fluid cathepsin B activity and periodontal attachment loss in chronic periodontitis patients. A 2-year longitudinal study. *J Periodont Res* 1996; 31: 381-392.
22. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis 10. Potential markers of bone resorption. *Br Dent J* 1998; 184: 489-492.
23. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis 6. Proteolytic and hydrolytic enzymes of inflammatory cell origin. *Br Dent J* 1998; 184: 268-271.
24. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis 7. Proteolytic and hydrolytic enzymes link with periodontitis. *Br Dent J* 1998; 184: 323-376.
25. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis 8. Commercial diagnostic kits based on GCF proteolytic and hydrolytic enzyme levels. *Br Dent J* 1998; 184: 373-376.
26. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis 9. Potential markers of cell death and tissue degradation. *Br Dent J* 1998; 184: 427-430.
27. Giannobile WV, Lynch SE, Denmark RG, Paquette DW, Fiorellini JP, Williams RC. Crevicular fluid osteocalcin and pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP) as markers of rapid bone turnover in periodontitis. A pilot study in beagle dogs. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 903-910.

28. Inrey PB, Crawford JM, Cohen RL, Alves MEAF, McSwiggin TA, Chambers DAA. Cross sectional analysis of aspartate aminotransferase in human gingival crevicular fluid. *J Periodont Res* 1991; 26: 75-84.
29. Kennett CN, Cox SW, Eley BM. Comparative histochemical, biochemical and immunocytochemical studies of cathepsin B in human gingiva. *J Periodont Res* 1994; 29: 870-877.
30. Kennett CN, Cox SW, Eley BM. Localization of active and inactive elastase, alpha-1-proteinase inhibitor and alpha-2-macroglobulin in human gingiva. *J Dent Res* 1995; 74: 667-674.
31. Kennett CN, Cox SW, Eley BM, Osman IARM. Comparative histochemical and biochemical studies of mast cell tryptase in human gingiva. *J Periodontol* 1993; 64: 870-877.
32. Kryshalskyi E, Sodek J. Nature of collagenolytic enzyme and inhibitor activity in gingival crevicular fluid from healthy and inflamed periodontal tissues of beagle dogs. *J Periodont Res* 1987; 22: 264-269.
33. Kunimatsu K, Mataka S, Tanaka H. A cross-sectional study of osteocalcin levels in gingival crevicular fluid from periodontitis patients. *J Periodontol* 1993; 64: 865-869.
34. Lamster IB. The host response in gingival crevicular fluid: potential applications in periodontitis clinical trials. *J Periodontol* 1992; 63: 1117-1123.
35. Lamster IB, Holmes LG, Gross KBW. The relationship of B-glucuronidase activity in crevicular fluid to clinical parameters of periodontal disease. Findings from a multicentre study. *J Clin Periodontol* 1994; 21: 118-127.
36. Lamster IB, Oshrain RL, Harper DS, Celenti RS, Hovliaras CA, Gordon JM. Enzyme activity in crevicular fluid for detection and prediction of clinical attachment loss in patients with chronic adult periodontitis. *J Periodontol* 1998; 59: 516-523.
37. Lee W, Aitken S, Sodek J, McCulloch CAG. Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *J Periodont Res* 1995; 30: 23-33.
38. Listgarten MA, Levin S. Positive correlation between proportions of subgingival spirochetes and motile bacteria and susceptibility of human subjects to periodontal deterioration. *J Clin Periodontol* 1981; 8: 122-138.
39. Listgarten MA. Microbial testing in the diagnosis of periodontal disease. *J Periodontol* 1992; 63: 332-337.
40. Loesche WJ, Bretz W, Lopatin D. Multicentre clinical evaluation of a chairside method for detecting certain periodontopathic bacteria in periodontal disease. *J Periodontol* 1990; 61: 189-196.
41. Loesche WJ. DNA probe and enzyme analysis in periodontal diagnosis. *J Periodontol* 1992; 63: 1102-1109.
42. Lopatin DE, Caffessee ER, Bye FL, Caffessee RG. Concentrations of fibronectin in the sera and crevicular fluid in various stages of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 359-364.
43. Mandell RL, Socransky SS. Selective medium for *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and the incidence of the organism in juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1981; 52: 593-598.
44. Nakashima K, Roehrich N, Cimasoni G. Osteocalcin, prostoglandin E₂ and alkaline phosphase in gingival crevicular fluid their relations to periodontal status. *J Clin Periodontol* 1994; 21: 327-333.
45. Page RC. Host response tests for diagnosis periodontal diseases. *J Periodontol* 1992; 63: 356-366.
46. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 1991; 26: 230-242.
47. Palcanis KG, Larjava IK, Wells BR. Elastase as an indicator of periodontal disease progression. *J Periodontol* 1992; 63: 237-274.
48. Persson GR, Alves MEAF, McSwiggin TA. A multicentre trial of PerioGard™ in distinguishing between diseased and healthy periodontal sites I. Study design, methodology and therapeutic outcome. *J Periodontol* 1995; 22: 794-803.
49. 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* 1990; 25: 81-87.
50. Persson GR, De Rouen TA, Page RC. Relationship between levels of aspartate aminotransferase in gingival crevicular fluid and gingival inflammation. *J Periodont Res* 1990; 25: 17-24.
51. Reinhardt RA, McDonald TL, Bolton RW, DuBois LM, Kaldahl WB. IgG subclasses in gingival crevicular fluid from active versus stable periodontal sites. *J Periodontol* 1989; 60: 44-50.
52. Smith QT, Hinrichs JE, Melnyk RS. Gingival crevicular fluid myeloperoxidase at periodontitis sites. *J Periodont Res* 1986; 21: 45-55.
53. Svanberg GK. Hydroxyproline determination in serum and gingival crevicular fluid. *J Periodont Res* 1987; 22: 133-138.
54. Talonpoika JT, Lämäläinen MM. Type I collagen carboxyterminal telopeptide in human gingival crevicular fluid in different clinical conditions and after periodontal treatment. *J Clin* 1994; 21: 320-326.
55. Theilade E. The nonspecific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1986; 13: 905-911.
56. Villola B, Cogan RB, Bartolucci AA, Birkedal-Hansen H. Collagenolytic activity in crevicular fluid from patients with chronic adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and gingivitis and from healthy control subjects. *J Periodont Res* 1987; 22: 381-389.