

## FARKLI KİMYASAL YAPILARDAKİ AĞIZ GARGARALARININ İNSAN DİŞETİ FİBROBLASTLARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI \*

### THE EVALUATION OF THE EFFECTS OF ORAL RINSES WITH DIFFERENT CHEMICAL AGENTS ON HUMAN GINGIVAL FIBROBLASTS

GÜLAY TÜTER †, DENİZ ÇETİNER †, MEHMET YALIM §, İSMET GÜRHAN "

#### ÖZET

Mikrobiyal dental plak ile periodontal hastalık arasında güçlü bir korelasyon olduğu günümüzde yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Bu nedenle periodontal hastalığı önlemek için etkili bir plak kontrolü gereklidir. Plağın mekanik olarak uzaklaştırılması en tercih edilen yöntemse de belirli endikasyonlar çerçevesinde bu amaçla kimyasal ajanlardan da faydalanılmaktadır. Kimyasal ajanların etkileri standart ölçüm metodları ile klinik olarak değerlendirilebilmektedir. Ancak bu ajanların yara iyileşmesi üzerine etkileri de önem taşımaktadır. Çalışmamızda 6 değişik kimyasal yapıdaki ajanın insan gingival fibroblastları üzerinde farklı sürelerdeki sitopatolojik etkileri araştırıldı. İn vitro koşullarda eşit sayıda hücre içeren gruplar oluşturularak çalışmaya başlandı. Bu gruplara farklı yapılarıdaki gargara solüsyonları aynı miktarlarda ilave edilerek, 10", 30", 60" ve 120" sürelerle muamele edildi. Daha sonra %5 CO<sub>2</sub> ve %95 hava içeren etüvde 37 °C de 4 gün süreyle inkübe edildi. Süre sonunda her gruba ait hücre sayımları yapılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Sonuçta; povidin iyodür ve triklosan içeren ağız gargaralarının diğer kimyasal ajanlardan daha az sitopatolojik etkiye sahip oldukları saptandı (p<0.01).

**Anahtar kelimeler:** Ağız gargarası, mikrobiyal dental plak, povidon iyodür, setilpiridinyum klorid, klorheksidin, triklosan, benzydamin HCl, sodyum florür, fibroblast, in-vitro

#### SUMMARY

Recent investigations suggest that, there is a strong correlation between microbial dental plaque and periodontal diseases. Thus, an effective plaque control is necessary to prevent oral diseases. Dental plaque can be controlled mechanically. Also, chemical agents are utilized during periodontal treatment. Although the effects of these agents can be evaluated clinically by using standard measurement methods, their effectiveness on wound healing is also important. In this study, the cytopathological effects of 6 different chemical agents on human gingival fibroblasts were evaluated in different times. At the beginning of this in vitro study, the groups were formed with containing equal number of cells. Chemical agents in different types were studied at 10", 30", 60" ve 120". Then they were incubated for 4 days at 37 °C in a humidified atmosphere of 5% CO<sub>2</sub> ve 95% air. At the end of this period, cell measurements were done for each group and the results were evaluated statistically. The data of the study showed that depending on different types and application times, povidine iodine and triclosan have less cytopathologic effects than the other chemical agents (p<0.01).

**Key words:** Oral rinses, microbial dental plaque, povidon iodine, cetylpyridinium chloride, chlorhexidine, triclosan, benzydamine HCl, sodium fluoride, fibroblast, in-vitro

\* Türk Periodontoloji Derneği 27. Bilimsel Kongresi'nde tebliğ edilmiştir (Mayıs 1997, Antalya)

† Dr. GÜ Dişhekimliği Fakültesi Periondontoloji Anabilim Dalı

‡ Dr. GÜ Dişhekimliği Fakültesi Periondontoloji Anabilim Dalı

§ Doç. Dr. GÜ Dişhekimliği Fakültesi Periondontoloji Anabilim Dalı

" Uzm. Vet. Dr. ŞAP Enstitüsü, Hücre Bankası ve Üretim Öncesi Kontrol Laboratuvarı Şefi

#### GİRİŞ

Periodontal hastalıkların gelişmesinde primer etiyolojik faktörün mikrobiyal dental plak olduğu bilin-

mektedir. Dişeti sağlığının korunmasında ve sürdürülmesinde plağın mekanik olarak diş yüzeyinden uzaklaştırılması oldukça önemlidir. Mikrobiyal dental plağın mekanik olarak diş yüzeyinden tamamen

uzaklaştırılması mümkün olmakla birlikte bireylerin, plağı optimal düzeyde uzaklaştırmada başarısız kaldıkları da ortaya konmuş ve yapılan klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda gingivitisin en yaygın dişeti hastalığı olduğu tespit edilmiştir<sup>10,16</sup>. Bu noktada mekanik temizliğe ek olarak plağın kimyasal olarak uzaklaştırılmasına yönelik uygulamalar da önem kazanmaktadır. Kimyasal plak kontrolü, hastanın mekanik plak kontrolünü sağlamada yetersiz kaldığı durumlarda, cerrahi uygulamalardan sonra, akut periodontal hastalıklarda ve mental retardasyonlu hastalarda kullanım alanı bulmaktadır<sup>3,5,6,13,17</sup>.

Belirtilen endikasyonların ışığı altında Povidon iyodür, Setilpiridinyum klorid (CPC), %0.2'lik Klorheksidin (CHX), Triklosan, Benzidamin Hidroklorür (Benzidamin HCl), NaF gibi çeşitli etken maddeleri içeren gargara solüsyonlarından da yararlanılmaktadır. Bu ajanlar, plak inhibisyonu, kalkulus oluşumunu önleme ve antiinflamatuvar özellikleri nedeniyle tercih edilmektedirler<sup>14,13</sup>.

Literatürü incelediğimizde, bu ajanların klinik etkilerinin değerlendirildiği çok sayıda araştırma mevcut olmasına rağmen sitopatolojik etkilerini değerlendiren sınırlı sayıda çalışma tespit edilmiştir<sup>2,8,9,12,14,18</sup>.

Çalışmamızda; farklı etken madde içeren gargara solüsyonlarının insan dişeti fibroblastları üzerine olabilecek sitotoksik etkilerinin in-vitro olarak değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Hücre kültürü

Çalışmada kullanılan hücreler sistemik olarak ve periodontal açıdan sağlıklı, gönüllü bireylerin lokal anestezi altında interdental papilinden alınan dişeti biyopsilerinden elde edildi. İnsan dişeti fibroblastları hücre kültürü için gerekli ortam koşullarında üretildi. Çalışmada 7. pasaj dişeti fibroblastları kullanıldı.

Deney öncesi kültür kaplarına (5 adet, 24- well plate)<sup>1</sup> her bölmede  $1 \times 10^4$ /ml hücre içeren vasattan 1 ml eklendi. Takiben insan dişeti fibroblastları  $37^\circ\text{C}$  de % 5  $\text{CO}_2$  % 95 havalı etüvde inkübe edildi. Kültür vasatı olarak Dulbecco's Modified Eagles Medium/ Ham's F12<sup>1</sup>:1 Nutrient Mixture kullanıldı.

### Solüsyonların hazırlanması

Çalışmada; Povidon iyodür<sup>1</sup>, CPC<sup>2</sup>, % 0.2'lik CHX, Triklosan<sup>3</sup>, Benzidamin HCl<sup>4</sup>, NaF<sup>5</sup> gargara solüsyonları kullanıldı. Solüsyonlar üretici firmaların öngördükleri konsantrasyonlarda hazırlandı. Bütün solüsyonlar 0.20 µm filtre ile süzülerek steril edildi.

### Toksisite Deneyi

Hücrelerin 24 saat inkübasyonundan sonra hemositometre ile sayım yapılarak her bölmede ortalama  $27 \times 10^3$  hücre bulunduğu tespit edildi. Vasatları uzaklaştırılan kültür kaplarının üzerine gargara solüsyonları (1 ml olmak üzere) 10", 30", 60" ve 120" sürelerle ayrı ayrı uygulandı. Kontrol grubuna ise sadece vasat konuldu.

10",30",60",120" süreler ile fibroblastların gargara solüsyonları ile muamele edilmesini takiben ortamdaki gargara solüsyonları uzaklaştırılarak hücreler 3 kez fosfat buffer solüsyonu (PBS) ile yıkandı. Üzerlerine 1 ml vasat konularak  $37^\circ\text{C}$  % 5  $\text{CO}_2$  % 95 havalı etüve kaldırıldı. Fibroblastların bu şekilde 4 gün süreyle üremelerine izin verildi.

Dördüncü günün sonunda her gruptan farklı uygulama sürelerine ait 4 örneğin kantitatif değerlendirmeleri her bir bölmedeki toplam canlı hücre sayısı hemositometre ile sayım yapılarak elde edildi. Daha sonra ayrılan örnekler Giemsa ile boyanarak (Zeiss Axiovert 100) ışık mikroskopunda  $\times 100$  büyütmede görüntülendi.

Her bölmedeki canlı hücre sayım sonuçları  $\chi^2$  testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

## BULGULAR

Çalışmamızda farklı etken maddelere sahip gargara solüsyonlarının insan dişeti fibroblastları üzerindeki sitotoksik etkileri 10", 30", 60" ve 120" lerde de-

<sup>1</sup> Sigma St.Louis USA

<sup>2</sup> Betadin

<sup>3</sup> Oral-B

<sup>4</sup> Colgate Plax

<sup>5</sup> Tantum Verde

III İpanol

ğerlendirildi. Gruplara ait hücre sayıları Tablo I'de gösterilmiştir.

Tüm gruplara ait farklı zaman dilimlerindeki canlı hücre sayıları gruplar arasında karşılaştırma yapılarak değerlendirilmiştir (Şekil 1). Gargara solüsyonlarının 10 sn. süreyle uygulandığı gruba ait değerlendirilmedi; povidon iyodür grubunda  $48 \times 10^3$ , CHX grubunda  $15 \times 10^3$ , CPC grubunda  $15 \times 10^3$ , triklosan grubunda  $31 \times 10^3$ , Benzidamin HCl grubunda  $13 \times 10^3$ , NaF grubunda  $13 \times 10^3$  ve kontrol grubunda  $37 \times 10^3$  sayıda canlı hücre tespit edildi. Povidon iyodür, Triklosan ve kontrol gruplarına ait hücre sayısı ile CHX, CPC ve Benzidamin HCl gruplarına ait hücre sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık kaydedildi ( $p < 0.01$ ). Ancak Povidon iyodür, Triklosan ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

Gargara solüsyonlarının 30 sn. uygulandığı gruba ait canlı hücre sayımı sonuçlarına göre povidon iyodür grubu ( $17 \times 10^3$ ) ile triklosan ( $8 \times 10^3$ ) ve Benzidamin HCl ( $8 \times 10^3$ ) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ( $p < 0.01$ ). Di-

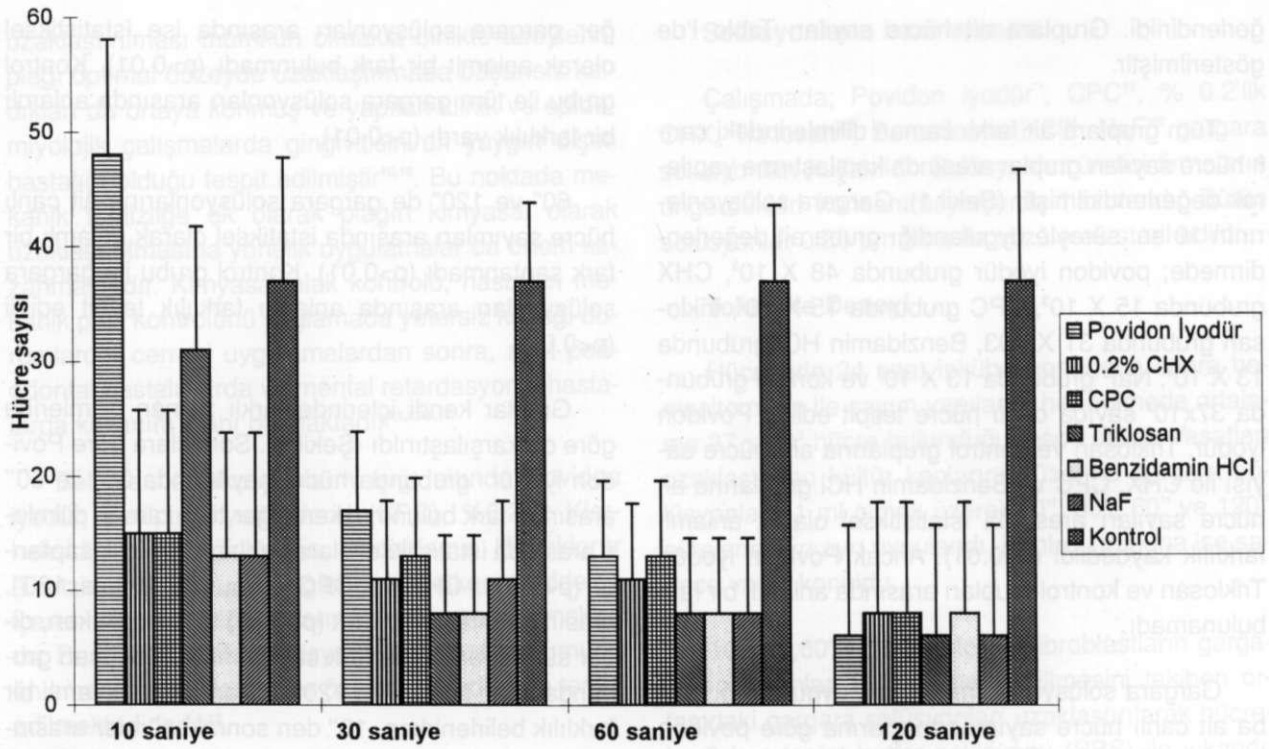
ğer gargara solüsyonları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p > 0.01$ ). Kontrol grubu ile tüm gargara solüsyonları arasında anlamlı bir farklılık vardı ( $p < 0.01$ ).

60" ve 120" de gargara solüsyonlarına ait canlı hücre sayımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p > 0.01$ ). Kontrol grubu ile gargara solüsyonları arasında anlamlı farklılık tesbit edildi ( $p < 0.01$ ).

Gruplar kendi içlerinde farklı zaman dilimlerine göre de karşılaştırıldı (Şekil 2). Sonuçlara göre Povidon iyodür grubunda hücre sayılarında 30" ile 60" arasında fark bulunmazken diğer tüm zaman dilimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p < 0.01$ ). CHX ve CPC grubunda 10" ile 120". arasında anlamlı bir fark ( $p < 0.01$ ) tespit edilirken, diğer süreler arasında fark saptanmadı. Triklosan grubunda 10sn ile 30, 60, 120". ler arasında anlamlı bir farklılık belirlenirken, 10" den sonraki süreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p > 0.01$ ). Benzidamin HCl grubunda süreler arasında anlamlı bir farklılık kaydedilmedi ( $p > 0.01$ ).

**Tablo I.** Tüm gruplara ait canlı hücre sayıları

GARGARA SOLÜSYONU	10" DEKİ CANLI HÜCRE SAYISI	30" DEKİ CANLI HÜCRE SAYISI	60" DEKİ CANLI HÜCRE SAYISI	120" DEKİ CANLI HÜCRE SAYISI
Povidon İodine	$48 \times 10^3$	$17 \times 10^3$	$13 \times 10^3$	$6 \times 10^3$
0.2% CHX	$15 \times 10^3$	$11 \times 10^3$	$11 \times 10^3$	$8 \times 10^3$
CPC	$15 \times 10^3$	$13 \times 10^3$	$13 \times 10^3$	$8 \times 10^3$
Tsiklosan	$31 \times 10^3$	$8 \times 10^3$	$8 \times 10^3$	$6 \times 10^3$
Benzidamin HCl	$13 \times 10^3$	$8 \times 10^3$	$8 \times 10^3$	$8 \times 10^3$
NaF	$13 \times 10^3$	$11 \times 10^3$	$8 \times 10^3$	$6 \times 10^3$
Kontrol	$37 \times 10^3$	$37 \times 10^3$	$37 \times 10^3$	$37 \times 10^3$



Şekil 1. Dişeti fibroblastlarının gargara solüsyonları ile 10,30,60,120 saniye muamele edilmesi sonrası canlı hücre sayılarının gruplar arası karşılaştırılması

NaF grubuna ait hücre sayımlarında 10" ile 120" arasında canlı hücre sayısı yönünden anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ( $p>0.01$ ).

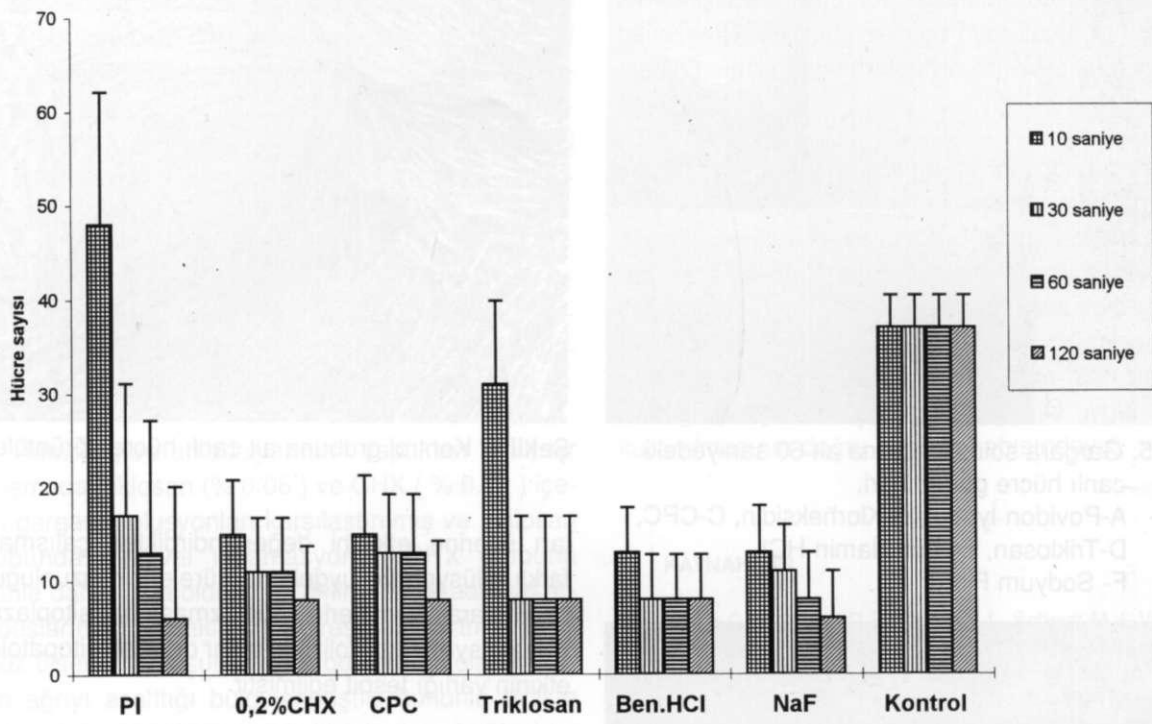
Tüm gruplara ait farklı sürelerdeki ışık mikroskopik görüntüler elde edilirken (Şekil 3,4,5,6,7), triklosan grubunda canlı hücre sayımı yapılabilmese rağmen Giemsa ile boyandığında görüntü sağlanamadı.

#### TARTIŞMA VE SONUÇ

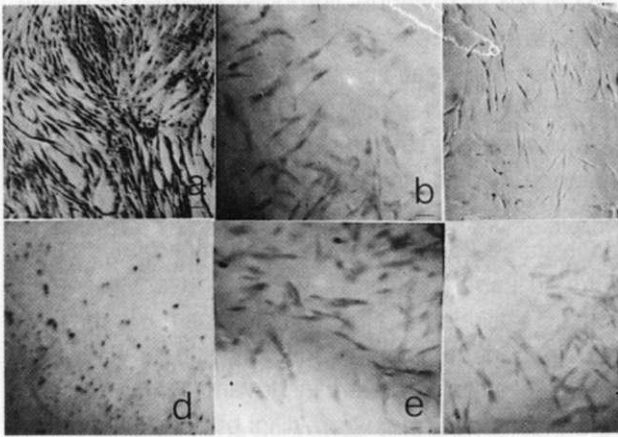
Mekanik plak kontrolüne ilaveten plak oluşumunu ve patojenitesini elimine etmeye yönelik antimikrobiyal kimyasal ajanların kullanımı günümüzde üzerinde çok sayıda çalışmanın yapıldığı ve yapılmakta olduğu bir konudur<sup>4,6,10,12</sup>. Farklı etken maddeleri içeren bu kimyasal ajanların klinik etkilerinin ortaya konduğu çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen, sitotoksik etkilerini değerlendirmeye yönelik oldukça sınırlı sayıda çalışma tespit edilebilmiş, bu çalışma-

larda da önceliği CHX'in aldığı belirlenmiştir<sup>2,7</sup>. Bu nedenle çalışmamızda farklı etken madde içeren gargara solüsyonlarının insan dişeti fibroblastları üzerine olabilecek sitotoksik etkilerinin in vitro olarak değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Çalışmamız, benzer araştırmalarda olduğu gibi in vitro koşullarda gerçekleştirilmiş, ancak deney hayvan hücrelerinden değil insan dişeti fibroblastlarından yararlanılmıştır.

Deney aşamasında, inkübasyon süresi, hücre sayısı ve gargara solüsyonlarının uygulanma süreleri tüm gruplarda eşit tutularak standardizasyon sağlanmaya çalışılmıştır. Yine benzer şekilde, kullanılan gargara solüsyonlarının konsantrasyonları ve uygulama süreleri klinik kullanım amacıyla önerilen şekilde hazırlanmış ve uygulanmıştır. Böylece farklı etken maddelere sahip solüsyonların hücreler üzerindeki toksik etkisi karşılaştırmalı olarak değerlendirilebilmiştir. Yapılan çalışmalarda optimal plak inhibisyonu amacıyla kullanılan kimyasal ajanların antiinflamatuvar

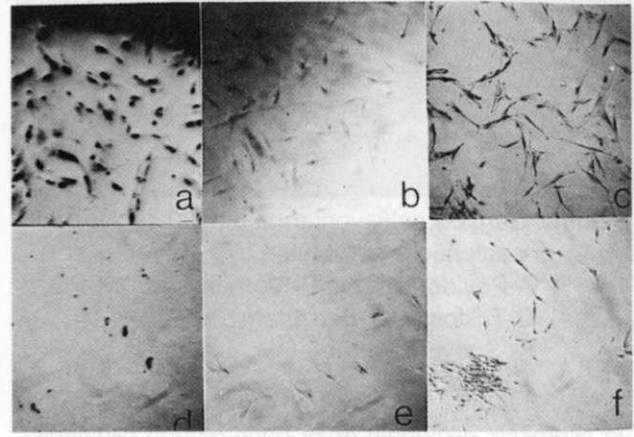


Şekil 2. Tüm gruplara ait 10,30,60,120 saniyedeki canlı hücre sayılarının grup içi değerlendirilmesi



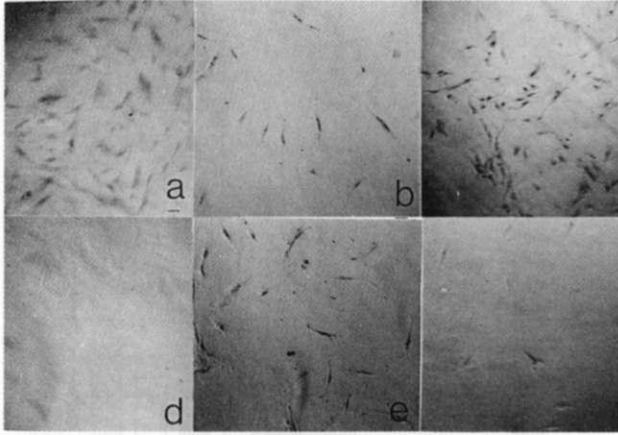
Şekil 3. Gargara solüsyonlarına ait 10 saniyedeki canlı hücre görüntüleri.

A-Povidon İyodür, B-Klorheksidin, C-CPC, D-Triklosan, E-Benzidamin HCl, F-Sodyum Florür

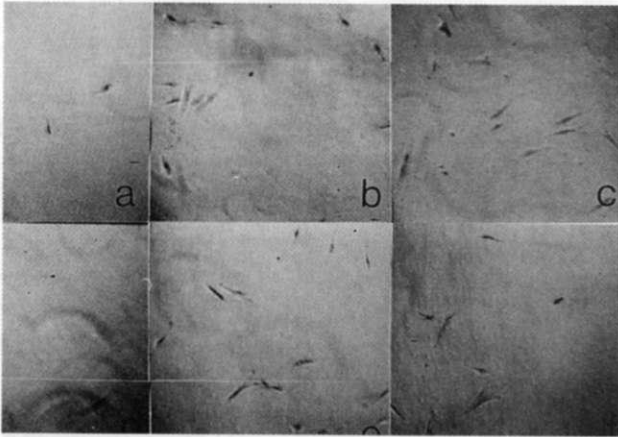


Şekil 4. Gargara solüsyonlarına ait 30 saniyedeki canlı hücre görüntüleri.

A-Povidon İyodür, B-Klorheksidin, C-CPC, D-Triklosan, E-Benzidamin HCl, F-Sodyum Florür



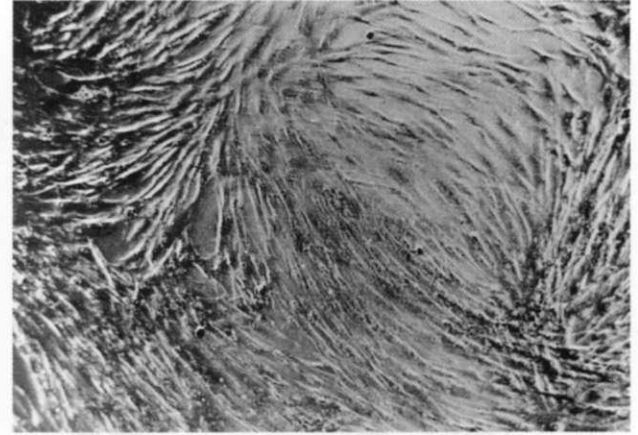
**Şekil 5.** Gargara solüsyonlarına ait 60 saniyedeki canlı hücre görüntüleri.  
A-Povidon İyodür, B-Klorheksidin, C-CPC, D-Triklosan, E-Benzidamin HCl, F- Sodyum Florür



**Şekil 6.** Gargara solüsyonlarına ait 120 saniyedeki canlı hücre görüntüleri.  
A-Povidon İyodür, B-Klorheksidin, C-CPC, D-Triklosan, E-Benzidamin HCl, F- Sodyum Florür

ve sitotoksik etkilerinin doza bağlı olduğu bildirilmiştir<sup>10</sup>. Çalışmamız, inkübasyon süresi, hücre sayısı ve gargara solüsyonlarının uygulanım süresi açısından tamamen eşit şartlarda gerçekleştirilmiş olmasına rağmen, sonuçlar arasındaki farklılığın ajanların kimyasal yapısıyla ilgili olabileceğini düşünmekteyiz.

Baloş ve arkadaşlarının<sup>2</sup> çeşitli konsantrasyonlardaki CHX'in insan periodontal ligament fibroblast-



**Şekil 7.** Kontrol grubuna ait canlı hücre görüntüleri.

ları üzerine etkisini değerlendirdikleri çalışmada, farklı dilüsyon ve uygulama sürelerinin uzunluğuna bağlı olarak hücrelerin sitoplazmasında, sitoplazmik vakuolasyondan sitolizise kadar değişen sitopatolojik etkinin varlığı tespit edilmiştir.

Alleyn ve arkadaşlarının<sup>1</sup>, % 0.12'lik CHX uygulanmış kök yüzeylerine insan dişeti fibroblastlarının ataşmanını değerlendirdikleri in vitro çalışmada, CHX'in kök yüzeylerine fibroblast ataşmanını önemli ölçüde inhibe ettiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca CHX'in insan dişeti fibroblast kültürleri ve insan serviks epitelloid karsinoma (HeLA) hücre kültürlerinde protein sentezinin inhibisyonu, hücre ölümü ve hücre hasarına neden olduğu gösterilmiştir<sup>7</sup>. Düşük konsantrasyonlarda (0.01%) CHX'nin insan epitel hücrelerini, insan fibroblastlarını ve rat makrofajlarını öldürdüğü kanıtlanmıştır<sup>9</sup>. %0.2 lik konsantrasyonları ağız içi çalkalama amacıyla kullanılmakla birlikte, CHX'in penetrasyonunu önlemek için oral kaviteyi kaplayan epitel hücrelerinin devamlılığını koruması ve bariyer oluşturması gerekliliği bildirilmiştir<sup>2,15</sup>.

Biz de çalışmamızda gargara solüsyonlarının dişeti fibroblastları ile etkileştiği süre arttıkça canlı hücre sayısında belirgin bir azalma olduğunu gördük. Bu sonuç yukarıda belirtilen çalışmaların bulguları ile uyumludur.

CHX'in %0.2 konsantrasyonlarında devamlı kullanıma bağlı olarak oral mukozal lezyonların oluştu-

ğu kaydedilse de, Loe ve arkadaşlarının<sup>11</sup> günde iki kez CHX kullanan 61 hasta üzerinde yaptıkları 2 yıl süreli araştırmada hastaların hiçbirinde böyle bir bulguya rastlanmamıştır. Bu çalışma bizim çalışmamızdan farklı olarak klinik düzeyde yapılmıştır. Hücresel düzeyde ne gibi değişikliklerin oluşabileceğini cevaplamaktan uzaktır.

Yapılan klinik çalışmalarda mekanik plak kontrolü ile birlikte CHX uygulamasının sadece mekanik temizliğe oranla plak akümüasyonu ve gingival enflamasyonu önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir<sup>3,10</sup>.

Ramberg ve arkadaşlarının<sup>15</sup> yaptıkları klinik bir çalışmada triklosan (% 0.06 ) ve CHX ( % 0.12 ) içeren gargara solüsyonları karşılaştırılmış ve triklosan grubunda gingival inflamasyonun CHX grubuna oranla daha fazla olduğu bildirilmiştir. Skaare ve arkadaşlarının<sup>17</sup> yaptıkları bir araştırmada triklosanın aftöz ülserlerin oluşumunu ve buna bağlı olarak oluşan ağrıyı azalttığı bulgulanmıştır. Bununla birlikte triklosanın anti enflamatuar etkisinin doza bağlı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Benzidamin HCl'den radyoterapi, kemoterapi, travma ve ağız içi dermatozlara bağlı olarak gelişen mukositlerin tedavisinde de yararlanıldığı saptanmıştır<sup>5</sup>.

Ünsal ve arkadaşları<sup>19</sup> dişeti sağlığının korunmasında farklı ağız gargaralarının klinik etkinliklerini karşılaştırdıkları çalışmalarında ; aktif maddesi CHX ve CPC olan gargaraların, NaF ve Triklosan olanlara göre dişeti iltihabını azaltmada daha etkili olduğunu kaydetmişlerdir. Gerek CHX gerekse CPC plağı bir miktar arttırmalarına rağmen gingival skorlar ve mikroorganizma ortalama değerlerinde belirgin azalmaya neden olmuşlardır.

Çalışmamızda uygulama süresi arttıkça gargara solüsyonlarının hücreler üzerindeki toksik etkisinin de arttığı gözlenmiştir. Işık mikroskopik bulgular değerlendirildiğinde gargaraların uygulama süresi arttıkça dişeti fibroblastlarının sayısının azaldığı ve yayılma özelliklerini kaybettiği görülmektedir. Bu hemisitometre ile yaptığımız canlı hücre sayımı sonuçlarını destekler niteliktedir. Ancak triklosan grubunda diğer gruplardan farklı olarak canlı hücre sayımı yapılmasına rağmen ışık mikroskopik görüntü elde edi-

lememiştir. Bu durumun kullanılan boya maddesi ile triklosanın etkileşimi sonucu hücrelerin görüntü vermesini engellemesi nedeniyle ortaya çıktığı kanısındayız.

Sonuç olarak desquamatif lezyonların ve aftöz ülserlerin varlığında kimyasal ajanların kullanımında dikkatli olunması, kullanımın kaçınılmaz olduğu durumlarda kullanım süreleri kısıtlı olmak şartıyla sitotoksik etkileri daha az görülen gargara solüsyonlarının tercih edilmesi uygun olacaktır. Kimyasal plak kontrolünün mekanik plak kontrolüne rutin bir alternatif gibi düşünülmeyp, gereğinde ve uygun dozda kullanılmasının doğru olacağı kanısındayız.

#### KAYNAKLAR

1. 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.
2. Baloş K, Özcan G, Baran C, Yalım M, Gürhan İ. Çeşitli konsantrasyonlardaki Chlorhexidine' in insan periodontal ligament fibroblastları üzerine etkisi. Otorinolarenoloji ve stomatoloji dergisi, 2:100-104,1988.
3. Brex M, Theilade J, Attström R, Glantz P O . The effect of chlorhexidine and Octapinol\* on early human plaque formation. A light electron microscopic study. J Perio Res 22:290-295, 1987.
4. Eaton K A, Rimini F M, Zak E, Brookman D J, Hopkins L M A, Cannell P J, Yates L G, Morrice C A, Lall B A, Newman H N. The effects of 0.12 % chlorhexidine-digluconate-containing mouthrinse versus a placebo on plaque and gingival inflammation over a 3-month period. J Clin Periodontol 24:189-197, 1997.
5. Epstein J B, Stevenson-Moore P. Benzylamine hydrochloride in prevention and management of pain in oral mucositis associated with radiation therapy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 62:145-148, 1986.
6. Gabler W L, Roberts D, Harrold W : The effect of chlorhexidine on blood cells. J Perio Res, 22 : 150-155,1987.
7. Goldschmidt P, Cogen R, Taubman S . Cytopathologic effects of chlorhexidine on human cells. J Periodontol 48:212-215, 1977.
8. Grenier D. Effect of chlorhexidine on the adherence properties of Porphyromonas gingivalis. J Clin Periodontol 23:140-142, 1996.

9. Harvey B V, Squier C A, Hall B K . Effects of chlorhexidine on the structure and permeability of hamster cheek pouch mucosa, J Periodontol 55:609-614,1984.
10. Lang NP , Ramseier-Grossmann K . Optimal dosage of chlorhexidine digluconate in chemical plaque control when applied by the oral irrigator. J Clin Periodontol 8:189-202, 1981.
11. Loe H, Rindom Schiott, Glavind L, Karring T. Two years' oral use of chlorhexidine in man. General design and clinical effects. J Periodon Res 80:135,1976.
12. Mohd Asari A, Newman H N, Wilson M, Bulman J S. 0.1%, 0.2% commercial chlorhexidine solutions as subgingival irrigants in chronic periodontitis. J Clin Periodontol 23:320-325, 1996.
13. Neiders M E, Weiss L. The effects of chlorhexidine on cell deattachment in vitro. Arch Oral Biol 17:961-967, 1972.
14. Nohutçu R M. Klorheksidin ve Hidrojen Peroksit'in insan lenfosit hücreleri üzerine sitogenetik etkileri. HÜ Dişhek Fak Derg 13:167-172, 1989.
15. Ramberg P, Furuichi Y, Volpe A R, Gaffar A, Lindhe J. The effects of antimicrobial mouthrinses on de novo plaque formation at sites with healthy and inflamed gingivae. J Clin Periodontol 23:7-11, 1996.
16. Schaeken M J M, Van der Hoeven J S, Saxton C A, Cummins D. The effect of mouthrinses containing zinc and triclosan on plaque accumulation, development of gingivitis and formation of calculus in a 28-week clinical test. J Clin Periodontol 23:465-470, 1996.
17. Skaare A B, Kjaerheim V, Barkvoll P, Rölla G. Does the nature of the solvent affect the anti-inflammatory capacity of triclosan. J Clin Periodontol. 24:124-128, 1997.
18. Smith B, Caffesse R, Nasjleti C, Kon S, Castelli W . Effects of citric acid and fibronectin and laminin application in treating periodontitis. J Clin Periodontol 14:396-402, 1987.
19. Ünsal B, Bal B, Ökte E, Akbay A, Yücesoy V, Türet S, Baloş K. Dişeti sağlığının korunmasında farklı ağız gargaralarının etkinliklerinin karşılaştırılması. EÜ Dişhek Fak Dergisinde yayına kabul edilmiştir.

#### Yazışma adresi

Doç. Dr. Mehmet YALIM  
GÜ Dişhekimiği Fakültesi  
Periodontoloji Anabilim Dalı  
Emek - 06510 ANKARA