



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

FARKLI İÇERİKLİ AĞIZ ÇALKALAMA
SOLÜSYONLARININ İNSAN GİNGİVAL
FİBROBLAST HÜCRE KÜLTÜRLERİ
ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ

Arif ŞAYBAK

DOKTORA TEZİ

Yrd. Doç. Dr. Taner ARABACI

TRABZON-2013



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

FARKLI İÇERİKLİ AĞIZ ÇALKALAMA
SOLÜSYONLARININ İNSAN GİNGİVAL
FİBROBLAST HÜCRE KÜLTÜRLERİ
ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ

Arif ŞAYBAK

DOKTORA TEZİ

Yrd. Doç. Dr. Taner ARABACI

TRABZON-2013

BEYAN

Bu tez çalışması KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih:

Arif ŞAYBAK

İTHAF

*Hayatımın her aşamasında yardımlarını, desteklerini ve sevgilerini benden esirgemeyen
ve hep yanımda olan*

Annem ve Babama

Saygı ve Sevgilerimle

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimde ve kişisel, mesleki gelişimimde bana her daim yardımcı olan çok değerli danışmanım ve saygı değer hocam Yrd. Doç. Dr. Taner ARABACI'ya,

Mesleki ve kişisel olarak kendilerinden bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocalarım Doç.Dr. Esra BALTACIOĞLU, Prof. Dr. Varol ÇANAKÇI, Prof. Dr. Recep ORBAK, Doç. Dr. Fatih ÇANAKÇI, Yrd. Doç. Dr. Abubekir ELTAS'a,

Doktora tezimin fikri, laboratuvar ve yazım aşamalarında yardımlarını esirgemeyen ve özveri ile destekleyen değerli hocalarım Prof.Dr. Sema Hakkı ÖZCAN, Doç.Dr. Hasan TÜRKEZ, Doç.Dr. Abdülğani TATAR, Yrd. Doç. Dr. Adem KARA'ya,

Beraber çalışmaktan her daim memnuniyet duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma,

Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Destek Birimine 2011/301 proje no'lu projemizi desteklediklerinden dolayı,

Ayrıca her daim yanımda olup desteklerini yanımda hissettiren Annem, Babam ve kardeşlerim Ali ŞAYBAK ve Ramazan ŞAYBAK'a

Tüm içtenliğim ve samimiyetimle şükranlarımı sunarım.

Dt. Arif ŞAYBAK

İÇİNDEKİLER**Sayfa**

İç Kapak sayfası

KABUL ve ONAY

BEYAN

İTHAF

TEŞEKKÜR

TABLolar DİZİNİ

x

ŞEKİLLER DİZİNİ

xi

KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

xiv

1.ÖZET

1

2. SUMMARY

3

3. GİRİŞ ve AMAÇ

5

4. GENEL BİLGİLER

8

4.1. Periodontal hastalıklar

8

4.2. Mikrobiyal Dental Plak

9

4.3. Plak Hipotezleri

9

4.4. Periodontal Tedavinin Amacı

9

4.5. Plak Kontrolü

10

4.6. Antimikrobiyal Ağız Çalkalama Solüsyonları

11

4.6.1. Antimikrobiyal Ağız Çalkalama Solüsyonların Kullanım Alanları

11

4.6.2. İdeal Bir Antiseptik Solüsyonun Özellikleri

11

4.7. Klorheksidin Glukonat (KHG)

12

4.7.1. Yapısı

12

4.7.2. Etki Mekanizması

12

4.7.3. KHG Kullanım Alanları	13
4.7.4. Yan Etkileri	14
4.7.5. KHG Toksik Etkileri	14
4.8. Listerine (LN)	15
4.8.1. Yapısı	15
4.8.2. Etki Mekanizması	16
4.8.3. LN Kullanım Alanları	16
4.8.4. Yan Etkileri	17
4.8.5. Toksik Etkileri	17
4.9. Benzidamin Hidroklorür (BHCl)	18
4.9.1. Yapısı	18
4.9.2. Etki Mekanizması	18
4.9.3. Benzidamin HCl Kullanım Alanları	19
4.9.4. Yan Etkileri	20
4.9.5. Toksik Etkileri	20
4.10. Gengigel (GG)	21
4.10.1. Yapısı	21
4.10.3. Kullanım Alanları	23
4.10.4. Yan Etkileri	23
4.10.5. Toksik Etkileri	23
4.11. Hücre Kültürü	24
4.11.1. Hücre Kültürü Kullanım Alanları	24
4.11.2. Hücre Kültürü Avantajları	25
4.11.3. Hücre Kültürü Dezavantajları	26
4.12. Bağ Dokusu ve Ekstraselüler Matriks	27
4.12.1. İnsan Gingival Fibroblast	27

4.13.	Reaktif Oksijen Türleri	29
4.14.	Oksidatif Stres	30
4.15.	Total Oksidatif Durum (TOS)	31
4.16.	Antioksidanlar	31
4.16.1.	Antioksidanların sınıflaması	31
4.17.	Total Antioksidan Kapasite (TAS)	32
4.18.	Laktat Dehidrogenaz (LDH)	33
5.	GEREÇ ve YÖNTEM	34
5.1.	Materyal	34
5.1.1.	Gingival fibroblast hücrelerinin elde edilmesi	34
5.1.2.	Fibroblastların Alt Kültürü	37
5.1.3.	Kullanılacak Ağız Gargaraları İle Fibroblast Kültürlerinin Maruz Bırakılması İçin Yapılan Deney Dizaynı	38
5.1.4.	TAS Düzeyinin Belirlenmesi	39
5.1.5.	TOS Belirlenmesi	40
5.1.6.	Laktat Dehidrogenaz (LDH) Tayini	41
5.2.	İstatiksel Analiz	43
6.	BULGULAR	44
6.1.	Kültürlerde LDH Seviyelerinin Değerlendirilmesi	44
6.2.	Ağız çalkalama solüsyonlarının kültürlerde Total Antioksidan Kapasitenin (TAS) seviyelerinin üzerine etkisi değerlendirilmesi	52
6.2.1.	Doza ve zamana bağlı olarak kültürlerde TAS seviyelerinin değerlendirilmesi	52
6.2.3.	Ağız Çalkalama Solüsyonlarının Kültürlerde TAS seviyeleri üzerine olan etkilerinin Kıyaslanması	57
6.3.	Ağız çalkalama solüsyonlarının kültürlerde Total Oksidatif Stresin (TOS) seviyelerinin üzerine etkisi değerlendirilmesi	59
6.3.1.	Doza ve zamana bağlı olarak kültürlerde TOS seviyelerinin değerlendirilmesi	59

6.3.3. Ağız Çalkalama Solüsyonlarının Kültürlerde TOS seviyeleri üzerine olan etkilerinin Kıyaslanması	64
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	66
8. KAYNAKLAR	78
9. ÖZGEÇMİŞ	95

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo		Sayfa
Tablo 1.	BHCl ile muamele edilen kültürlerde LDH seviyelerinin doza ve süreye bağlı olarak değerlendirilmesi.	44
Tablo 2.	LN ile muamele edilen kültürlerde LDH seviyelerinin doza ve süreye bağlı olarak değerlendirilmesi.	46
Tablo 3.	GG ile muamele edilen kültürlerde LDH seviyelerinin doza ve süreye bağlı olarak değerlendirilmesi.	47
Tablo 4.	KHG ile muamele edilen kültürlerde LDH seviyelerinin doza ve süreye bağlı olarak değerlendirilmesi	48
Tablo 5.	BHCL ile muamele edilen kültürlerde TAS seviyelerinin doza ve süreye bağlı olarak değerlendirilmesi	53
Tablo 6.	LN ile muamele edilen kültürlerde TAS seviyelerinin doza ve süreye bağlı olarak değerlendirilmesi	54
Tablo 7.	GG ile muamele edilen kültürlerde TAS seviyelerinin doza ve süreye bağlı olarak değerlendirilmesi	55
Tablo 8.	KHG ile muamele edilen kültürlerde TAS seviyelerinin doza ve süreye bağlı olarak değerlendirilmesi	56
Tablo 9.	BHCL ile muamele edilen kültürlerde TOS seviyelerinin doza ve süreye bağlı olarak değerlendirilmesi	60
Tablo 10.	LN ile muamele edilen kültürlerde TOS seviyelerinin doza ve süreye bağlı olarak değerlendirilmesi	61
Tablo 11.	GG ile muamele edilen kültürlerde TOS seviyelerinin doza ve süreye bağlı olarak değerlendirilmesi	62
Tablo 12.	KHG ile muamele edilen kültürlerde TOS seviyelerinin doza ve süreye bağlı olarak değerlendirilmesi	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
Şekil 1.	Klorheksidin diglukonatın kimyasal yapısı	12
Şekil 2.	Listerine ait kimyasal formül	15
Şekil 3.	Benzidamin HCl'kimyasal yapısı	18
Şekil 4.	Gengigel'e ait kimyasal formül	21
Şekil 5.	Üremekte olan İGF hücrelerine ait inverted mikroskop görüntüsü	34
Şekil 6.	Kültüre edilmiş plakların bekletildiği etüv cihazı	35
Şekil 7.	İnverted hücre kültürü mikroskobu (Olympus, USA)	35
Şekil 8.	Çalışmamızda kullanılan santrifüj makinası	36
Şekil 9.	Zamanlara göre uygulanan kültüre edilmiş plaklar	37
Şekil 10.	Kullanılan ağız çalkalama solüsyonlarının ticari preparatları	38
Şekil 11.	Spektrofotometrik analizde kullanılmak üzere hazırlanmış 96 kuyucuklu plaklar	39
Şekil 12.	BHCL uygulanan grubun doza bağlı LDH seviyesi	45
Şekil 13.	LN ile muamele edilen kültürlerin doza bağlı LDH seviyesi	46

Şekil 14.	GG ile muamele edilen kültürlerin doza bağlı LDH seviyesi	48
Şekil 15.	KHG uygulanan kültürlerin doza bağlı LDH düzeyleri	49
Şekil 16.	BHCl, LN, GG, KHG ile 1 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF doza göre LDH seviyeleri değerlendirilmesi.	50
Şekil 17.	BHCl, LN, GG, KHG ile 5 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF’ında doza göre LDH seviyeleri değerlendirilmesi.	51
Şekil 18.	BHCl, LN, GG, KHG ile 15 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF’ında doza göre LDH seviyeleri değerlendirilmesi.	52
Şekil 19.	BHCl ile muamele edilen kültürlerdeki doza bağlı TAS düzeyleri	53
Şekil 20.	LN uygulanan kültürlerdeki doza bağlı TAS seviyeleri	55
Şekil 21.	GG uygulanan kültürlerdeki TAS seviyesinin doza bağlı değişimi	56
Şekil 22.	KHG ile muamele edilen hücre kültürlerinde doza bağlı TAS düzeyi değişimi	57
Şekil 23.	BHCl, LN, GG, KHG ile 1 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF’da doza göre TAS seviyeleri değerlendirilmesi	57
Şekil 24.	BHCl, LN, GG, KHG ile 5 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF’da doza göre TAS seviyeleri değerlendirilmesi	58
Şekil 25.	BHCl, LN, GG, KHG ile 15 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF doza göre TAS seviyeleri değerlendirilmesi	59
Şekil 26.	BHCl ile muamele edilen kültürlerdeki doza bağlı TOS seviyesi	60

Şekil 27.	LN ile muamele edilen hücre kültürlerindeki TOS seviyesinin doza bağlı değişimi	61
Şekil 28.	GG ile muamele edilen kültürlerin doza bağlı TOS düzeyi değişimi	62
Şekil 29.	KHG uygulanan kültürlerdeki TOS seviyesinin doza bağlı değişimi	63
Şekil 30.	BHCl, LN, GG, KHG ile 1 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF doza göre TOS seviyeleri değerlendirilmesi	64
Şekil 31.	BHCl, LN, GG, KHG ile 5 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF' ında doza göre TOS seviyeleri değerlendirilmesi	65
Şekil 32.	BHCl, LN, GG, KHG ile 15 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF' ında doza göre TOS seviyeleri değerlendirilmesi	65

KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

$^1\text{O}_2$	Singlet Oksijen
BHCl	Benzidamin Hidroklorür
Ca^{+2}	Kalsiyum İyonu
KAT	Katalaz
CgRP	Kalsitonin Gen İlişkili Peptid
CO_2	Karbondioksit
Co-HA	Kobalt Bağlı Hyaluronik Asit
COXs	Siklooksijenaz
DMEM	Dulbecconun Modifiye Minimal Esansiyel Medyum
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
FBS	Fetal Bovine Serum
GG	Gengigel
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
HA	Hyaluronik Asit
IFN-γ	İnterferon Gamma
IL	İnterlökin
İGF	İnsan Gingival Fibroblastlar
KHG	Klorheksidin Diglukonat

LDH	Laktat Dehidrogenaz
LN	Listerin
MDA	Malondialdehit
MMP	Matriks Metallo Proteinaz
MN	Mikronükleus Testi
Mn-HA	Manganez Bağlı Hyaluronik Asit
MTT	Metil Tetrazolium
NO⁻	Nitrikoksit
NSAİİ	Non- Steroidal Antienflamatuar İlaçlar
O₂⁻	Süperoksit
O₂	Moleküler Oksijen
OH⁻	Hidroksil Radikali
PBS	Fosfatlı Tampon Serum
PGE₂	Prostoglandin-E ₂
PMNL	Polimorfonükleer Lökositler
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SDH	Süksinik Dehidrogenaz
SGCE	Single Cell Gel Elektroforezis
SOD	Süperoksit Dismutaz
SR	Serbest Radikaller
TAS	Total Antioksidan Kapasite

TOS	Total Oksidatif Durum
XTT	2,3-Bis(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2H – Tetrazolium-5carboxanilide
Zn-HA	Çinko Bağlı Hyaluronik Asit

1.ÖZET

Farklı İçerikli Ağız Çalkalama Solüsyonlarının İnsan Gingival Fibroblast Hücre Kültürleri Üzerindeki Toksik Etkilerinin İncelenmesi ve Değerlendirilmesi

Bu çalışmanın amacı; Klorheksidin diglukonat (KHG) , Listerine® (LN), Gengigel® (GG) ve Benzidamin HCL (BHCl) gibi ağız çalkalama solüsyonlarının total antioksidan kapasite (TAS), total oksidatif durum (TOS), Laktat Dehidrogenaz (LDH) düzeyleri üzerine etkilerinin insan gingival fibroblast (İGF) kültürleri üzerinde karşılaştırılmalı olarak incelenmesi ve değerlendirilmesidir.

Bu çalışmada insan gingival fibroblast hücre hattı kullanıldı. Sekiz farklı konsantrasyonda (%0, 1, 2, 5, 10, 25, 50, 100) dört farklı içerikli ağız gargarasıyla (KHG, LN, BHCl, GG) muamele edilen İGF'lerin hücre canlılığı ve gargaraların sitotoksitesi 1, 5 ve 15 dakikalık zaman aralıklarıyla LDH analiziyle; oksidan ve antioksidan durum değerlendirmesi de aynı zaman aralıkları ile TAS ve TOS analizleri ile gerçekleştirildi.

Çalışmamızda LDH analizi sonucunda, gargaraların sitotoksitesinin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) en yüksek toksik etkinin GG 'in %50 ve 100'lük, LN'in %10 ve üstü konsantrasyonlarında olduğu görülmektedir. En düşük sitotoksik etkinin ise BHCl 'de olduğu tespit edilmiştir. TAS analizlerinin sonucunda İGF hücreleri üzerine gargaralarla muamelelerde LN uygulamasının diğerlerine göre daha fazla ve istatistiksel anlamlı ($p<0.05$) oranda antioksidan seviyeyi düşürdüğü görülürken, diğer gargaraların tüm zamanlarda ve konsantrasyonlarda antioksidan düzeyde istatistiksel anlamlı ($p>0.05$) bir etki oluşturmadığı görülmüştür. TOS düzeylerinde ise oksidan seviyesindeki istatistiksel anlamlı ($p<0.05$) artışın GG'in %10, 25, 50 ve 100'lük ve LN'in %100'lük konsantrasyonunda tüm zamanlarda olduğu görülmüştür. En düşük TOS seviyesinin ise BHCl uygulaması yapılan gruplarda olduğu belirlendi.

Kullandığımız gargaraların İGF hücreleri üzerine olumsuz etkilere sahip olduğu, antioksidan kapasiteyi düşürdüğü ve oksidatif durumu negatif etkilediği kanaatine varıldı. Periodontal tedavide, günlük oral hijyen temininde uzun süreli kullanımlarda

daha dikkatli olunması gerekmektedir. Etki mekanizmaları ve etki sürecinin daha iyi anlaşılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Sitotoksite, Total Antioksidan Kapasite, Total Oksidatif Durum, Klorheksidin diglukonat, Listerin, Gengigel, Benzidamin HCl

2. SUMMARY

Investigation and Evaluation of Cytotoxic Effects of Different contents Mouthwashes Solutions on Human Gingival Fibroblast Cells

The aims of present study are to investigate and evaluate comparative effects of Chlorhexidine digluconate (KHG), Listerine® (LN), Gengigel® (GG) and Benzydamine HCl (BHCl) in accordance with total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS), and lactate dehydrogenase (LDH) concentrations on human gingival fibroblast cell line.

Human gingival fibroblast cell line was used for this study. In the study, total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS), and lactate dehydrogenase (LDH) concentrations were determined by analyses based on spectrophotometric absorbance for eight different concentration and (0%, 1, 2, 5, 10, 25, 50, 100), four different contented mouthwashes solutions (KHG, LN, BHCl, GG), and 1, 5, and 15 minutes of incubation periods.

Analysis of LDH, the highest and significantly different cytotoxic effects were found for 50% and 100% concentrations of GG and 10% and above concentrations of LN ($p < 0.01$). Also, the lowest cytotoxic effects were found in the treatment with BHCl mouthwash solution. The result of TAS analysis, although LN treatment was decreased significantly TAS concentration when compared the other groups ($p < 0.05$), treatment with other mouthwashes solutions for all incubation periods and concentrations were not changed significantly TAS concentrations ($p > 0.05$). Additionally, the results of TOS analysis, the significant decrease in TOS concentration was found in treatment with GG for 10, 25, 50, and 100% concentrations groups for all treatment periods ($p < 0.05$). The lowest concentration of TOS was determined in the treatment with BHCl groups.

The results of analysis indicated that there was the negative effects of these mouthwashes solutions on human gingival cells, these solutions were affected the antioxidant capacity and total oxidant status dependent treatment periods and concentration. In periodontal treatment, to should avoid long time usage of these solutions for daily oral hygiene. Additionally, more detailed studies are needed to determine the effect mechanism and duration of these solutions.

Key Words: Cytotoxicity, Total Antioxidant Status, Total Oxidative Status, Chlorhexidine diglukonat, Listerine, Gengigel, Benzydamine HCl

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Periodontal hastalıklar, etiyolojisinde primer olarak periodontopatojen bakterilerin neden olduğu, patojenik bakteriler ile konak immün cevap arasındaki etkileşimin bir sonucu olarak; bağ dokusu kaybı, alveoler kemik rezorpsiyonu ve periodontal cep oluşumu ile karakterize kronik inflamatuvar bir hastalıktır (1). Hastalığın patogeneğinde mikrobiyal dental plaktaki gram negatif anaerobik veya fakültatif bakteriler ciddi bir yer teşkil etmektedir (2). Bu nedenle antimikrobiyal ajanların kullanımı uzun yıllardır tedavide başvurulmuş seçenekler içerisinde vazgeçilmez olmuştur.

Son 30 yıldır mekanik ve kimyasal metotlar ile yapılan ağız temizliği ve plak kontrolü çürük, gingivitis ve periodontal hastalıklara karşı primer koruyucu müdahaledir. Diş fırçalama ve diş ipi kullanma gibi mekanik yöntemler, özellikle dişlerin aproksimal bölgelerinde yetersiz kaldığı için kimyasal tekniklere ilgi artmıştır (3). Antimikrobiyal solüsyonların, plak kontrolünde mekanik metotlarla birlikte etkili oldukları belirlenmiştir ve buna bağlı olarak ağız çalkalama solüsyonlarının kullanımı artmıştır (4).

Günümüzde farklı etken maddelere sahip çeşitli ağız çalkama solüsyonları bulunmaktadır. Bunlardan klorheksidin diglukonat, benzidamin hidroklorür, esansiyel yağ içerikli solüsyonlar, setilpridinyum klorid, povidon iyot, yüksek molekül ağırlıklı hyalunarik asit içerikli vb. gargaralar sıkça kullanım alanı bulmaktadır. Çalışmamızda farklı etken madde içerikli gargara kapsamında klorheksidin diglukonat içerikli Klorhex®, benzidamin hidroklorür içerikli Benzidan®, esansiyel yağ içerikli Listerine® ve son yıllarda piyasada yerini bulmuş olan yüksek molekül ağırlıklı HA içerikli Gengigel® kullanıldı.

Klorheksidin diglukonat (KHG) hekzametilen köprüsü içeren bisbiguanid yapısında antimikrobiyal bir ajan olup 30 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Piyasada en çok bilinen formu olan KHG'nin anti bakteriyel etkisi bakterilerce emilimi ile ilgilidir. Nötral pH'da pozitif yüklü KHG'in molekülü, negatif yüklü bakterilerce absorbe olur. Asidik şartlarda emilim azalır. Düşük yoğunluklarda sitoplazma membranının organizasyonunun bozulmasına sebep olur. Böylece bakteriyi ilaca geçirgen kılar ve önemli metabolik olaylar inhibe olur. Yüksek yoğunluklarda ise

sitoplazma içeriklerini koagüle eder (5). KHG uygulaması en yaygın kullanılan, test edilen ajan olduğundan, özellikle yüksek bakterisidal yeteneği, oral bakterilerin büyük bir kısmında matriks metalloproteinazları (MMP) azaltması ve proteolitik, glikosidik aktiviteleri engelleme kabiliyetinden dolayı antiseptik tedavide altın standart olarak kabul edilmiştir (6).

Esansiyel yağ içerikli gargaralar son 30 yılda en çok kullanılan ağız gargaralarından biri olmuştur. Sıklıkla bakteri plağını azaltmak için yapılan oral hijyen bakımının günlük bir parçası haline gelmiştir (7) ve içerdiği uçucu yağ içerikleri periodontal hastalıkların kontrol edilmesi için etkili olduğu bilinmektedir. Son yıllarda LN'nin toksitesi üzerine değişik deneysel modellerle daha çok temel ve klinik araştırmalar yapılmıştır. Flemingson ve ark (2008) insan dişeti fibroblastları üzerine yaptığı hücre kültürü çalışmalarında LN toksik olduğunu rapor etmişlerdir (8).

Yüksek moleküllü HA içerikli bir gargara olan Gengigel (GG) etkin bir anti-hyaluronidaz aksiyonu, doku rekonstrüksiyon gücü ve anti ödematöz etkisi olduğu belirtilmiştir (9, 10). Hyaluronik asit (HA) gingivitisin tedavisinde supragingival scalingin yanında bir klinik çalışmada da kullanılmıştır (11). Yüksek molekül ağırlıklı HA'in çok çeşitli bakteri suşları üzerine bakteriyostatik etkisi olduğu ifade edilmiştir (9, 12).

Benzidamin hidroklorür (BHCI); antienflamatuvar, analjezik, antipiretik ve lokal anestezik etki gösteren, sistemik ve lokal olarak uygulanabilen indazol türevi (13) bir non-steroidal antienflamatuvar ilaç (NSAİİ)'dir (14). BHCI antihelmintik özelliğe ve bir dereceye kadar antibakteriyel ve antifungal etkiye de sahip olduğu bildirilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı diş hekimliğinde cerrahi işlemlerden sonra oluşan ağrı ve inflamasyonun azaltılmasında kullanılmaktadır. Ayrıca, aftöz ülserler ve gingivitis gibi iltihabi olayların semptomatik tedavisinde de etkili olabilmektedir (14).

Periodontal hastalıkta gözlenen doku hasarından; spesifik gram negatif anaerobik veya mikroaerofilik bakteriler direk toksik ürünleri ya da indirek olarak konak savunma sistemini aktive etmeleri nedeni sorumludurlar (15). Reaktif oksijen türleri (ROT); sadece hücreler arası sinyalizasyon ve metabolik süreçte rol oynamaz ayrıca çeşitli inflamatuvar hastalıkların patogenezinde de yer aldıkları bildirilmiştir (16). Periodontal

hastalıkta hasarı; aktive olan immün cevabın etkisiyle polimorfonükleer lökositler (PMNL) fizyolojik aktivitelerinin aracılık ettiği serbest radikaller (SR) ve ROT oluşturulur (1, 17, 18). Bir dizi antioksidan mekanizmalarının SR/ROT düzeyini düşürerek veya etkisiz hale getirerek; SR/ROT tarafından oluşturulan zararı onarmak veya yeniden form vermek gibi spesifik rolleri vardır (1, 18). Vücutta ROT ile antioksidan seviyeleri arasında her zaman bir denge vardır (19). Serbest oksijen radikalleri ve antioksidan savunma sistemi ile bu türlerin inaktivasyonu arasındaki dengesizliğin bir sonucu olarak ortaya çıkan oksidatif stres, çeşitli hücrel ve hücre dışı bileşenlerde bir takım hasarlara sebep olabilmektedir (20).

Oksidatif stresin ve sitotoksitenin belirlenmesinde; enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar, total antioksidan kapasite (TAS), total oksidatif durum (TOS) ve laktat dehidrogenaz (LDH) gibi ürünlerinin ölçülmesi şeklindeki parametrelerden yararlanılmaktadır.

Literatürde alkol içeren veya içermeyen ağız çalkalama solüsyonlarının toksik etkileri hakkında çok az bilgi mevcuttur. Erciyas ve ark. (2010) çalışmalarında *Drosophila* wingspot testinde her bir kanat için total mutasyonlar açısından KHG ve BHCl'nin genotoksik olduğunu rapor etmişlerdir. Aynı şekilde, KHG oral mukoza hücrelerinde ve periferel rat kanında tek hücre gel (Comet) testi ile yapılan çalışmada genotoksik bulunmuştur (8, 21).

Yapılan literatür taramalarında bu gibi sık kullanılan ve reçete edilen ağız çalkalama solüsyonlarının toksik etkileri ve dokulardaki antioksidan kapasiteleri üzerindeki olumlu/olumsuz etkileri hakkında çalışmalar olmakla birlikte, tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu nedenle çalışmamızda bu ağız çalkalama solüsyonlarının antioksidan kapasite, oksidatif durum ve LDH analizi ile toksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Periodontal hastalıklar

Periodontal hastalıklar; dünyada sık görülen diş ve çevre yapılarını etkileyen, mikrobiyal dental plak içerisindeki patojen bakterilerin neden olduğu kronik enfeksiyöz hastalıklardır (22). Etyolojisinde ana faktör, patojen bakterilerin oluşturduğu biyofilm tabaka ile vücut savunma sisteminin tetiklenmesi sonucu ortaya çıkan bazen doku kaybı ve bazen de doku hasarı ile karakterize durumdur (23). Periodontal hastalıkların sonucu olarak gingival enflamasyon, alveol kemik ve bağ dokusunda kayıplar, periodontal cep oluşumu ve klinik ataçman kaybı görülebilir (22).

Periodontal hastalıklar dünden bugüne; klinik bulguları, etkilediği periodontal alanlar, doku farklılıkları ya da doku kaybının derecesine, mikrobiyal flora, immünolojik özellikler, hasta yaşı gibi değişiklikler dikkate alınarak, bilimsel tanı ve tedavi metotlarındaki gelişmeler göz önüne alınarak çeşitli şekillerde tasnif edilmiştir (24, 25). Periodontal ataçman kaybı olmaksızın diş taşı temizliği ile geri dönebilen, gingival enflamasyon ve/veya kanama ile karakterize periodontal hastalıklar gingivitis diye adlandırılırken, konak yanıtı ve bakteriyel enfeksiyon ile kompleks etkileşimin bir sonucu olarak periodontal ataçman kaybı ve dişler çevresinde kemik kaybı ile görülen periodontal hastalığa ise periodontitis denilmektedir (26).

Klasik bir deneyde; Loe ve ark.'ları açıkça gingivitis gelişiminde plak birikiminin rolünü göstermiştir. Yaptıkları çalışmada, sağlıklı dişeti bulunan hastalardan üç haftalığına tüm oral hijyen prosedürlerini bırakmaları istendi. Bu süreçte zaman/ plak birikimi ve gingivitis bulguları takip edildi. Sonuçta gingivitis başlangıcı ile plak birikimi ve plağın olgunlaşması arasında net bir zamansal ilişki olduğu sonucuna varıldı (27).

Periodontal hastalıkların ana sebebi olan bakteriyel plak oluşumunun yanı sıra hastalığın başlaması ve ilerleme sürecinde çeşitli sistemik hastalıklar, genetik faktörler, stres ve sigara kullanımı gibi faktörler de etkili olabilmektedir (28). Bu faktörler dikkate alındığında gingivitis olarak başlayan periodontal hastalık senelerce periodontitise dönüşmeden de kalabileceği gibi, periodontal ataçman kaybı ve alveol kemik kaybı ile periodontitise de dönüşebilir (29).

4.2. Mikrobiyal Dental Plak

Oral kavitenin mikroflorası pek çok çeşitlilik göstermektedir. Enfeksiyöz oral hastalıklara neden olabilen, ortalama 500 çeşit mikroorganizma oral kavitede yer almaktadır (30). Dişlerin erüpsiyonundan sonra çok kompleks bir oral flora oluşmaya başlar. Bu oral bakterilerin çoğu kommensal ve yararlı bakterilerdir (22).

İntraoral dental plak, bakteriyel plak veya mikrobiyal dental plak olarak adlandırılır (31). Mikrobiyal dental plağın oluşumu üç fazda meydana gelmektedir. Birinci faz 0-2 gündür. Fırçalamadan hemen sonra pelikül denen dişin tüm yüzeylerini kaplayan ince tükürük glikoproteinlerinden oluşan film tabakası üzerine ilk konumlanan bakteriler streptokoklardır. İkinci faz üçüncü ve dördüncü günleri kapsar. İlk yapışan bakterilerin arasında ve üzerinde anaeroblaşan alanlara gram pozitif ve gram negatif türler yerleşirler. Filamentöz organizmalara streptokokların yapışması ile "mısır koçanı" ya da gram negatif çomakların yapışmasıyla "test tüp fırçası" gibi oluşumlar görülür. Üçüncü ve son evre ise dördüncü ve dokuzuncu günlerdir. Bakteriler dişeti oluşu içine invaze olurlar. Anaerob gram negatif çomakların ve spiroketlerin arttığı dönemdir. Dişeti kenarına PMNL birikir. Dişetinde kanama görülür ve gingivitis artık gelişmiştir (32).

4.3. Plak Hipotezleri

1900'lerin ortalarında periodontal hastalıkların plak birikiminin zamanla, konak duyarlılığını ise yaş ile artması sonucunda konak cevabının azalmasıyla oluştuğuna inanılırdı (22). 1970'lerin ortalarına gelindiğinde ise o zamana kadar plağı bir bütün olarak hastalık ile ilişkilendiren non-spesifik plak hipotezine alternatif olarak spesifik plak hipotezi öne sürülmüştür (33).

4.4. Periodontal Tedavinin Amacı

Ekstraselüler bakteriyel polimerler, tükürük ve/veya dişeti eksudat ürünlerinden oluşan bir matriks içine gömülü bakterilerden meydana gelmektedir; ortama asit, endotoksin ve antijen gibi iritanlar salarak zamanla dişlerin çürümesine ve periodontal destek dokularda kayıplara neden olmaktadır. Ağırlığı yaklaşık 1 mg olan 1 mm³ mikrobiyal dental plak içinde 10⁸'den fazla bakteri bulunmaktadır. Dental plak içinde

yaşayan 300'den fazla türün izole edilmesine karşın hala tanımlanamayan mikroorganizmalar mevcuttur. Dişeti kenarı ile olan ilişkisine göre mikrobiyal dental plak supragingival ve subgingival olarak iki kategoride incelenir (31, 34).

Bu nedenle, major etiyolojik sebebinin mikrobiyal dental plak olduğu bilinen periodontal hastalıkların tedavisinin temel amacı; patolojik bakterilerin varlığını ortadan kaldırmak, supra- ve sub-gingival alandaki patojenik bakteri mikroflorasının rekolonizasyonunu en aza indirmektir (35). Periodontolojide koruyucu veya tedavi edici yaklaşımlar, non-spesifik plak hipotezine göre bir bütün olarak mikrobiyal dental plağa yönelik ya da spesifik plak hipotezine göre seçici olarak plaktaki özel bakterilere yöneliktir (32).

4.5. Plak Kontrolü

Plak kontrolü, çürük ve periodontal hastalıkların önlenmesinde temel teşkil etmektedir. Plak kontrolü mekanik ve kimyasal olarak yapılabilir (36). Mekanik olarak plak kontrolü, kişisel olarak günlük diş fırçalanması ve diş ipi kullanılması veya dental hijyenistce yapılan profesyonel diş taşı temizliği, scaling ve root planing işlemleridir.

Kimyasal plak kontrolü için beş çeşit kemoterapötik sıralanabilir (37);

- 1- Geniş spektrumlu anti-bakteriyel antiseptikler
- 2- Çeşitli bakteriyostatik ve bakterisit antibiyotikler
- 3- Placı bir arada tutan jel nevinden matriksi parçalayabilen veya plak aktivitesini modifiye edebilen bir enzim ya da enzim kombinasyonu
- 4- Placın veya metabolik aktivitesini bozabilen non- enzimatik ajanlar
- 5- Pelikül yüzeyine ve birbirlerine yapışan bakterilerin kolonizasyonuna engel teşkil eden ajanlar (32, 38).

Diş fırçalama ve diş ipi kullanımı gibi mekanik yöntemler, özellikle dişlerin aproksimal bölgelerinde yeterli olmadığı için kimyasal yöntemlere olan ilgi artış göstermiştir (3).

4.6. Antimikrobiyal Ağız Çalkalama Solüsyonları

Antimikrobiyal solüsyonların, plak kontrolünde mekanik yöntemlerle birlikte etkili oldukları belirlenmiştir. Böylece ağız çalkalama solüsyonlarının kullanımı artmıştır (4).

4.6.1. Antimikrobiyal Ağız Çalkalama Solüsyonların Kullanım Alanları

Periodontolojide antimikrobiyal ağız çalkalama solüsyonlarının pek çok kullanım alanı olmakla beraber;

- 1- Koruyucu olarak,
- 2- Tedavi edici olarak,
- 3- Bazı profesyonel işlemlere ek yardımcı olarak

Üç ana başlıkta kullanım amaçları tasnif edilebilir.

Bu solüsyonlardan beklentilerimiz daha çok, dental sağlığı korumaları, diş çekimi, oral cerrahi ve dental restoratif işlemler sırasında bakterilerin oluşturabileceği enfeksiyonlar ve bu nedenle oluşabilecek komplikasyonları önleyebilmeleridir (39).

4.6.2. İdeal Bir Antiseptik Solüsyonun Özellikleri

İdeal bir antiseptik solüsyon; toksisiteye, alerjiye, iritasyona neden olmamalı, oral yüzeylerde uzun süre kalmalı, patojen mikroorganizmalar üzerine etkili olmalı plak ve gingivitis klinik olarak önemli derecede azaltabilmelidir (32, 40). Antimikrobiyal çalkalama solüsyonları bakteri adhezyonunu, kolonizasyonunu engellemeli ve plak metabolizmasını etkileyebilmelidir. Lakin bunlarla beraber mukoza ve temas ettiği dokulara zarar vermemeli ve yutulma durumuna karşın toksik olmamalıdır Ayrıca kullanımı kolay, ekonomik ve tadı hoş olmalıdır (32).

İlaç alınımından sonra, KHG oral mukoza ve gastrointestinal sistem tarafından emilir. Klirens mekanizmalarının hareketi sayesinde, KHG karaciğer, böbreğe iletilir ve en son mesaneden atılır. Böylece, dental pratikte en çok kullanılan solüsyon olan KHG'a maruz kalınması nedeni KHG 'in kapsamlı risk değerlendirmesi özellikle farklı hedef organlarda önemlidir (42).

4.7.3.KHG Kullanım Alanları

KHG 'in kullanım alanları aşağıya sıralayacak olursak;

- Anjin, farenjit, larenjit ve tonsillitte uygun antibakteriyel tedaviye yardımcı olarak,
- Kemoterapi, radyoterapi veya diğer fizik sebeplerle (trakeal entubasyon gibi) bağlı ağız boşluğu mukozitlerde,
- Aft ülserleri, glosit,
- Ağız cerrahisi sonrası ve periodontal prosedürleri içeren ağırlı ağız ve boğaz durumlarının gecici olarak rahatlatılmasında,
- Gingivitis tedavisinde ve önlenmesinde,
- Ağız içi enfeksiyonların tedavisinde,
- Oral mukoza enflamasyonlarının tedavisinde (stomatitis),
- Dental plakların oluşmasını önlemede profilaktik olarak,
- Paradental hastalıklar, aşırı zorlanmaya bağlı paradentozlar,
- Yardımcı tedavi olarak konservatif diş tedavileri ve diş çekimlerinde,
- Ağız hijyeninin sağlanması amacıyla kullanılır (44).

Bir bulgu olarak; % 0.2'lik KHG ağız gargarasının, bir deneysel gingivitis çalışma modeli (45) kullanılarak; diğer oral hijyen prosedürleri yokluğunda klinik pratikte antimikrobiyal ağız gargaraları için olası plak ve gingivitisten etkin bir şekilde koruduğu görülmüştür. Bu durumda özellikle Avrupa'da 6 aylık (46) ya da 2 senelik (47) gibi sürelerdeki pek çok takip eden çalışmaların yapılmasına sebep olmuş ve bu sayede KHG'inin rutin oral hijyen metotlarına ek olarak antiplak ve antigingivitis etkinliğini gösterilmiştir. Sonuç olarak, %0,2'lik KHG Avrupa'nın birçok ülkesinde yaygın kullanılır hale geldi (48).

4.7.4. Yan Etkileri

KHG kullanımına bağlı olarak bazı yan etkilerin baş göstermesinin olası olduğu bildirilmiştir. Bunlar tat alma duyusunda bozukluk, diş renklenmeleri ve mukozal erozyonlar olarak özetlenebilir (34). Ağız mukozasında deskuamasyona neden olabilir (32).

Ayrıca plak ve gingivitisi azaltmak için kullanılan en etkili ajan ve hatta bu alanda altın standart (6) ya da çalışmalarda pozitif kontrol olarak kabul edilen alkol içerikli KHG 'da alkol içeriği ile değişmekle beraber bazı yan etkiler ve aynı zamanda bir takım kültürel ve dini çekinceler meydana gelmektedir. KHG içeren ağız çalkalama solüsyonları %12.6 oranında alkol içermektedirler. Fazla alkol kullanan kişilerde kullanımlarına bağlı olarak intra oral kanser oluşma riski mevcuttur (34).

Bu yan etkiler genel itibariyle %0,2'lik konsantrasyonda ve üç haftadan fazla kullanımda daha çok görülmektedir (36). Uzun süre kullanımda mikrobiyolojik olarak dirençli suşlar gelişimi izlenmemiştir (37).

4.7.5. KHG Toksik Etkileri

KHG klinik yararları bile düşük konsantrasyonlarda çeşitli deneylerle ispat edilmiş olmasına rağmen, genotoksik potansiyeli ve biyokimyasal etkileri hakkında veriler hala çelişkilidir. KHG'nin gingival fibroblastlar, epitel hücreleri, makrofajlar,

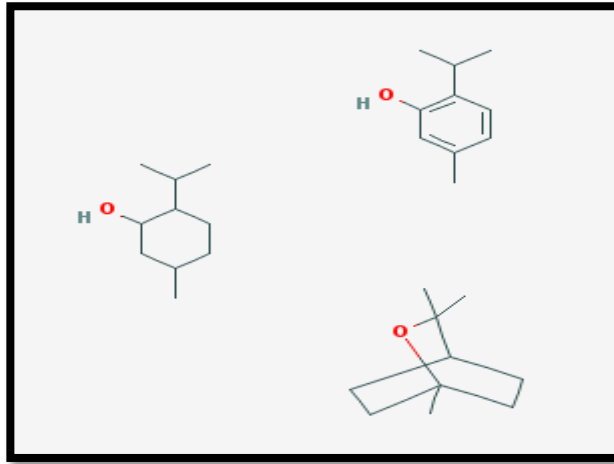
nötrofiller ve kültür kırmızı kan hücreleri gibi çeşitli hücre tipleri için toksik potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir.

KHG'ın topikal uygulama da epitel bariyeri yoluyla penetre olması nedeniyle doku hasarına sebep olduğu bildirildi. Dahası KHG'ın dağıtım ürünlerinden olan bazı Parachloroaniline gibi ürünlerin de mutajenik olduğu kabul edilmiştir. Çeşitli çalışmalar KHG'ın toksik potansiyeline işaret etse de insan dokuları üzerinde in vitro etkilerinde hala belirsizlikler mevcuttur (41).

4.8. Listerine (LN)

4.8.1. Yapısı

Listerine (%26.9) hidroalkolik taşıyıcı içinde mentol ve metilsalisilat ve fenolle ilişkili esansiyel yağların kombinasyonudur (49). Bu gargaranın aktif bileşeni %0.064 timol, %0.092, %0.060 metil salisilat, %0.042 mentol gibi esansiyel yağların belirli bir birleşimidir (48).



Şekil 2. Listerine ait kimyasal formül

Karbolik asit (fenol) ile türetilen Lister'in orijinal eseri olan bu formülasyon, on dokuzuncu yüzyıla kadar uzanan uzun geçmişi ile özellikle USA'da milyonlarca tüketici tarafından kullanılan gargaralardan biridir (49).

4.8.2. Etki Mekanizması

Esansiyel yağlar gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler ve mayalar etkileyen geniş bir antimikrobiyal spektruma sahiptir (50). Temel yağlı gargaraların non- spesifik bakterisidal aktivitesinin genişliği hem in vivo hem in vitro çalışmalarda açıkça gösterilmiştir (51). Oral antiseptikler genelde bakterisidal aktiviteleri ile bilinirken; LN'in ayrıca diş yüzeyindeki bakteri kolonizasyonunu önleme özelliği de vardır (50).

LN ağız gargarası; mikroorganizmaların hücre duvarının bütünlüğünü bozarak ve enzim aktivitelerini inhibe ederek onları yok ederler. Esansiyel yağların gargaraları gram pozitif öncü türleri çökmesini sağlayarak, bakterilerin çoğalmasını yavaşlatarak, gram negatiflerin endotoksinlerini çıkartarak bakterilere karşı koruma sağlarlar. Bu durumda bakteriyel yükü azaltabilir, plak maturasyonunu yavaşlatabilir ve plak kütesini azaltabilir ve bu da patogeniteyi azaltmış olur (52).

4.8.3.LN Kullanım Alanları

LN'in KHG kullanıldığı yerlere ek olarak;

Plak ve gingivitis oluşumunu azaltıcı özelliği uzun ve kısa dönem çalışmalarla ortaya konmuştur (34). Supragingival mikrobiyal bakteri kompozisyonunda istenmeyen etkiler izlenmeden uzun süreli kullanımının mümkün olduğu gösterilmiştir. Ayrıca oral mikrofloranın da antiseptik duyarlılığı değişmemekte dolayısı ile antimikrobiyal rezistans da gelişmemektedir (49). Ayrıca dental plak (53), tükürük(54) ve dil dorsumundaki (55) bakterilerin yok edilmesinde de etkili olduğu görülmüştür (51).

Esansiyel yağ gargaralarının plak biyofilmine nüfuz yeteneğine sahip olduğu görünüyor (56). Listerin (LN) gargaranın supragingival plak, gingivitis ve ağız kokusu üzerine oldukça etkili olduğu sonucunu görülmüştür (51). Ayrıca esansiyel yağlar

ulaşılması güç aproksimal yüzeylerdeki bakterileri öldürerek, kötü ağız kokusunun tüm göstergelerini baskılayarak etkili olur (49, 55).

Listerine (LN) son 30 yıl boyunca en yaygın kullanılan ağız gargarasıdır. Sıklıkla LN bakteriyel plağı azaltmak için günlük oral bakımın bir parçası halinde kullanılmaktadır. Ayrıca LN'nin içediğı esansiyel yağlar periodontal hastalıkların kontrolünde etkili olduğı bilinmektedir (8). LN klorheksidinin tadını tolere edemeyen ve renklenme yapmasından yakınan hastalar için yararlı olabilir (22).

4.8.4. Yan Etkileri

LN'in belirgin yan etkileri olmamakla beraber, alkol içeren formlarında % 21,6'dan %26,9' a kadar değışen alkol içediğinden dolayı kserostomiya sebep olabilir. Ayrıca LN alkolizm tedavisi nedeni antabuse (disulfiram) alan hastalarda kontra endikedir (22).

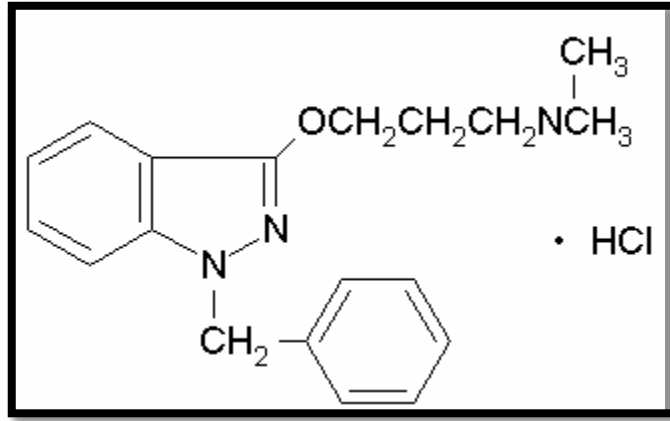
4.8.5. Toksik Etkileri

Geçen yıllar süresince; LN çeşitli deneysel modeller üzerine toksikositesini değıerlendirmek için daha fazla temel incelemeler ve klinik araştırmalar yapılmıştır. Flemingson ve ark. LN'nin insan gingival fibroblastları üzerine etkilerini inceledi ve hücre kültürlerinde LN toksik bulundu (57). Welk ve ark. ları klorheksidin, triklosan, etanol solusyonunda esansiyel yağlar (LN) ve amin/ stannoz florid içeren ağız gargaralarının izafi toksisitesinin rat periton eksplantı ile değıerlendirilmiştir (58). Bahsi edilen çalışmanın sonuçları gösterdi ki; LN'nin toksitesi diğere ağız gargaralarından belirgin şekilde daha azdır (8).

4.9. Benzidamin Hidroklorür (BHCl)

4.9.1. Yapısı

Antienflamatuar ilaçlar çoğunlukla asidik olmalarına rağmen BHCl tuzu halinde olan bir bazdır (59). BHCl kokusuz, beyaz, kristalimsi toz şeklinde bir etken maddedir. Oda sıcaklığında sudaki çözünürlüğü birebirdir, etanol ve kloroformda çözünür, eter’de çözünmez (60).



Şekil 3. Benzidamin HCl’kimyasal yapısı

Erime derecesi ise 157-159⁰C’dir. Sudaki %10’luk çözeltisinin pH’sı 4.0 –5.0 arasındadır (14). Benzidamin kimyasal olarak 3-(1-benzil-1H-indazol-3-oksi)-N,N-dimetilpropan-1-amin yapısındadır (44).

4.9.2. Etki Mekanizması

Benzidamin antienflamatuar, analjezik, antipiretik ve lokal anestezik etkisi gösteren, sistemik ve topikal olarak uygulanabilen bir NSAİİ’dir (61). Benzidamin hidroklorürün antienflamatuar etki mekanizması adrenal aksis salgılanmasıyla ilişkili değildir. Diğer steroid olmayan antienflamatuar ajanlar gibi benzidamin belirli koşullarda prostaglandin sentezini inhibe eder. Fakat bu özelliği tam olarak açıklanamamakla birlikte; hücre zarını kararlı hale getirici etki mekanizmasına bağlanabilir. Benzidamin hidroklorür her ne kadar bir NSAİİ ise de bilinen

NSAİİ'lerden farklı bir yapıya sahiptir. Diğer asidik NSAİİ'lerden farklı olarak alkalik pH'ya sahiptir. Bu alkali tabiatı sistemik dolaşıma geçmesini takiben iltihaplı dokularda yoğunlaşmasını sağlar. Sağlıklı dokularda yoğunluğu ise azdır. Platelet agregasyonunu siklooksijenaz inhibisyonundan bağımsız olarak inhibe eder (14, 62).

Enflamasyonda rol oynayan fagositlerin önemli cevabı degranülasyon sonucu yıkıcı enzimlerin salınmasıdır ve benzydamin bu cevabı önleyebilir. Granüllerin ve yıkıcı enzimlerin salınmasının engellenmesi hücre zarı kararlılaştırılması denilen genel bir olaya dahil edilmiştir. Bu hücre zarı kararlılaştırılması benzydaminin bazı antienflamatuvar özelliklerinden kaynaklanıyor olabilir (44).

Benzidaminin protein bağlama kapasitesi % 20'den azdır. İyonlaşmamış halinin proteine bağlanamaması ve yağdaki yüksek çözünürlüğünden dolayı benzydamin hücrelere serbestçe dağılabilir. Dağılım hacmi vücut suyundan daha fazladır. Diğer birçok bazik ilaçlardan farklı olarak doku tarafından daha düşük derecede alınmasına rağmen dağılım özellikleri bazik ve yağda çözünen ilaçlara benzemektedir (44).

4.9.3. Benzydamin HCl Kullanım Alanları

Benzidamin hidroklorürün antihelmintik özelliğe ve bir dereceye kadar antibakteriyel ve antifungal aktiviteye de sahip olduğu bildirilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı dişhekimliğinde cerrahi işlemlerden sonra oluşan ağrı ve inflamasyonun azaltılmasında kullanılmaktadır (14).

Ayrıca, aftöz ülserler ve gingivitis gibi iltihapsal olayların semptomatik tedavisinde de etkili olabilmektedir. Sabit ortodontik aygıtlar nedeniyle oluşan ülserasyonlar, Kulak, burun ve Boğaz hastalıkları bölümünde tonsillit, sinüzit ve ameliyatlarında, ortopedi ve travmatoloji'de doku zedelenmesi ve/ya da iltihaplı doku ameliyatlarında ayrıca üroloji ve jinekoloji ameliyatlarında kullanılır (14, 63).

Terapotik irridasyon sebebiyle oluşan mukozit, boğaz enfeksiyonları, tekrarlayan aftöz stomatitlerin nende olduğu ağrı gibi bir çok intraoral enflamatuvar durumun semptomatik tedavisinde bir lokal NSAİİ olarak kullanılmaktadır (61).

Gingivit tedavisinde ve önlenmesinde, ağız içi enfeksiyonların tedavisinde, Dental plakların oluşmasını önlemede profilaktik olarak, paradental hastalıklar, aşırı zorlanmaya bağlı paradentozlar, yardımcı tedavi olarak konservatif diş tedavileri ve diş çekimlerinde, ağız hijyeninin sağlanması amacıyla kullanılır (44).

4.9.4. Yan Etkileri

Benzidamin Hidroklorür'ün diğer NSAİİ'lara oranla mide-barsak kanalı yan etkisi çok düşüktür. Ancak hastaların küçük bir kısmında epigastrik ciddi olmayan ve geçici yan etkilerle karşılaşmıştır. Gargara tipi preparatında ağızda çok hafif bir tat almada duyarsızlık saptanmıştır. Buna rağmen yan etkileri önemsenmeyecek kadar az denilebilir (64, 65).

Formülasyon içindeki maddelerden herhangi birine hipersensivitesi olanlarda kullanılmaz. Gebelik ve emzirme dönemlerinde kullanılmamalıdır. Gebelik kategorisi C'dir. Emziren kadınlarda herhangi bir veri mevcut değildir. Bu nedenle emziren annelerin kullanımı kontrendikedir (44).

4.9.5. Toksik Etkileri

Benzidamin in vitro ortamda lökotaksisi engellemesinin yanında nötrofiller tarafından meydana getirilen ve doku zararına sebep olan süper oksit (O_2^-) iyonlarının oluşumunu inhibe ederek diğer NSAİİ 'lerden farklı bir etki gösterir.

Benzidamin in vitro olarak fibroblastlar ve immün komplekslerin neden olduğu trombosit agregasyonunu da önlemektedir. Nötrofil agregasyonu, makrofaj ve monositlerdeki respiratuar aktivite ve hidrojen peroksit oluşumu ve ayrıca trombosit aktive edici faktör üretimi de in vivo olarak benzidamin tarafından inhibe edilebilmektedir (61, 66).

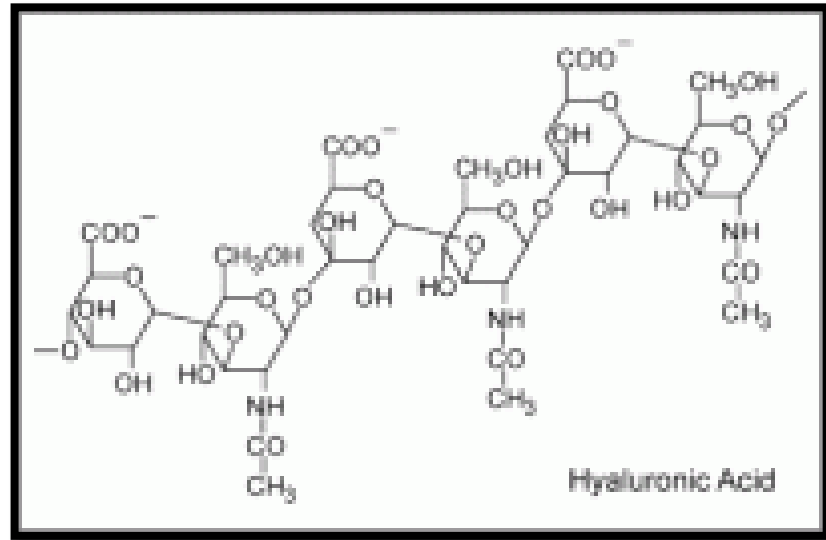
Diğer NSAİİ'lerin aksine; Benzidamine HCl siklooksijenaz (COXs) inhibe etmez ama lokal anestezi ile sonuçlanan membran stabilizasyonu yapar. Bu da proenflamatuar sitokinlerin üretimini baskılamasının yanı sıra nötrofillerin lökositlerin agregasyonu ve adhezyonu aracılığıyla ROT oluşumunu inhibe eder (21).

Bunun yanı sıra bir NSAİİ olan BHCl'ün hücre sayıları ve XTT testi birbirleri ile uyumlu olarak osteoblastlar üzerine sitotoksik olduğunu ve proliferasyonlarını sınırladığını ayrıca belirgin şekilde kültürde üremediği ve canlılıklarını devam ettiremediği görülmüştür (14).

4.10. Gengigel (GG)

4.10.1. Yapısı

Hyaluronik asit (HA); ekstraselüler matriksin önemli bir bileşeni şeklinde ve özellikle doku hidrodinamiği, hücre migrasyonu ve proliferasyonuna katkıda bulunan doğal sülfatlı olmayan yüksek molekül ağırlıklı (67) tekrarlayan disakkaritler, D-glukoronik asit ve N-asetil glukozamiden oluşan bir glikozaminoglikandır (68).



Şekil 4. Gengigel'e ait kimyasal formül

HA memeli bağ dokusu ekstraselüler matriks'sinde doğrusal ve yaygınca kullanılan, primer olarak mezenşimal hücrelerde sentez edilen; değişik matriksmolekülleri, kollagen ve fibrinin bağlantı kurması; proteoglikanların organizasyonu için omurga şekli meydana getiren (69); özellikle dişeti mukozasında bağ dokusunun doğal bir fizyolojik bir bileşenidir (68). GG ise sodyum Hyaluronan şeklinde olan, yüksek molekül ağırlıklı HA içeren oral tıbbi bir üründür (9).

4.10.2. Etki Mekanizması

HA bir kalsitonin gen ilişkili peptid (CgRP) gibi osteojenik substratları ve kemik morfojenik protein ile kemik yapıcı özellikleri taşımaktadır. Son çalışmalar HA'nın hem sert hem yumuşak doku onarım sürecine yardım ettiğini göstermiştir (12).

Pirnazar ve ark. yüksek molekül ağırlıklı HA'nın, molekül ağırlığı ve derişimine bağlı olarak *Porphyromonas gingivalis* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dahil farklı birçok bakteri türü üzerinde bakteriyostatik etkisi gösterdiğini kanıtlamıştır (12).

HA'nın anti enflamatuar etkisi bakteriyel hyaluronidazları etkisiz hale getirmesine, bağ doku proteoglikanların makroagregasyonunu normalleştirmesine ve anti-ödem etkisi geliştirdiği için susuz bağlanmaya isnat edilebilir (70).

Ayrıca, HA uyarıcı anjiyogenez tarafından iyileşmeyi teşvik eden bir doğal ve temel ekstraselüler matriks madde olduğu ifade edilmiştir. Bakteriyostatik ve antiseptik özellikleri vardır. Dokuların yapısal bütünlüğünü korur. Doku hidrasyon ve hücre fizyolojisini düzenler. Bir bariyer oluşturarak dokuları korur. Proenflamatuar sitokinlerin üretimini uyarır. Fagositlerin göçünü düzenler. Bakteri kolonizasyonu önler. Granülasyon dokusu oluşumunu ve iyileşmesini uyarır. Mineralize olan ve olmayan mineralize dokuları gelişimi için büyüme faktörleri ile etkileşir, dokulara lokal olarak uygulandığı zaman ve emilir (70).

4.10.3. Kullanım Alanları

HA; gingivitisli hastaların tedavisinde supragingival scalinge ek olarak kullanılan bir klinik çalışmada uygulanmıştır (11). Periodontolojide yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda kombine kullanımının cerrahi yaradaki bakteriyel kontaminasyonu en aza indirerek fayda sağlayabileceği için yara iyileşmesi ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda (71) takip eden implant cerrahi prosedürleri (72) ve tekrarlayan aftöz ülserasyon (73) yönetiminde de kullanılabilir.

HA'nın dental cerrahi sonrası enflamasyonu azalttığı rapor edilmiştir (9). Ayrıca HA jelin gastrik duvardaki ülser alanlarını azalttığı; bunun yanında koruma sağlayarak submukozal tabakaya lökosit infiltrasyonunu ve ödemi azalttığı ya da engellediği görülmüştür (74). HA'nın biyouyumluluk ve non-toksik olması nedeniyle oftalmoloji, dermatoloji ve romatoloji gibi pek çok biyomedikal alanlarda kullanılır (75).

4.10.4. Yan Etkileri

Hyaluronan, endotoksin varlığında, fibroblastlar tarafından üretilir; o doku hasarı inhibisyonu yoluyla önemli bir antienflamatuar rol oynar ve iyileştirici kolaylaştırır. Ayrıca dokuların büyümesi, gelişimi ve onarımında önemli bir faktördür (67).

Ancak zaman zaman fizik tedavide enjektabl kullanımda lokal reaksiyonlara rastlanabilmektedir. “Psödoseptik reaksiyon” veya “akut şiddetli enflamatuar reaksiyon” olarak tanımlanan, eklemde efüzyon, ısı artışı, hassasiyet ve ağrı ile seyreden yan etkilere rastlanabilir.

Bunun haricinde yan etkisi herhangi bir yan etkisine rastlanmamıştır. GG hamile kadınlar, emziren anneler ve çocuklar için uygundur. Diabet hastalarında da herhangi bir şeker bileşeni içermediği için uygundur (76).

4.10.5. Toksik Etkileri

HA; prostoglandin, metalloproteinazlar ve diğer biyoaktif molekülleri temizleyerek antienflamatuar bir ajan gibi rol oynar. Böylece enflamatuar mediatorlerin seviyesini azaltır (77). Hyaluronan, mitoz, hücre migrasyonu, angiogenezis, immün reaksiyonlar, fagositozis ve pek çok diğer süreçte rol oynadığı bilinmektedir. Ama

araştırmalar hala emekleme aşamasında olarak kabul edilmelidir (78). Toksik olmadığı dūřınılmek ile beraber yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Gargaraların toksitesini değerlendirmek pek çok yolla olabileceği gibi hücre kültür çalışmalarının da bu konuda hatırı sayılır bir yeri doldurduğu bilinmektedir. Bizim alışmamızda ise insan gingival fibroblast hücre kültürü kullanılmıştır.

4.11. Hücre Kültürü

Hücre kültürü, spontan migrasyon, mekanik veya enzimatik parçalanma ile bir dokudan ayrılmış olan hücrelerin (79) vücut dışında yaşatılması, sürekli üretim ve gelişimini ifade etmektedir. Canlı yapılardan elde edilen dokular, vücut ısılarında kültüre edilmekte ve vücudun özgün fizyolojik durumunu taklit eden besleyici sıvılarda beslenerek çoğaltılmaktadır.

Hücre kltrlerinin elde edilmesinde dikkat edilmesi gereken ana kaide, steril ortamların muhafazasıdır. Vücut dışında izole edilmiş hücre ya da organlar, enfeksiyonlara karşı koyabilecek kapasitede olmadıkları nedeniyle, hücre kültürü çalışmalarında, özel teçhizat ve malzemenin tecrübeli personelce kullanımının yanında kontaminasyondan kaçınmak için sterilizasyona azami zen gösterilmelidir (14).

4.11.1. Hücre Kültürü Kullanım Alanları

Hücre kültürünün çok yaygın kullanım alanları vardır. Bunlardan bazıları şöyle sıralanabilir;

- Viral hastalık teşhisi ve aşı retimi,
- Monoklonal antikorlar ile antikor retimi,
- İnterferon retimi,
- Enzim retimi,
- İnkstisit ve inkst aşı retimi,
- Hormon retimi.(insülin gibi),
- İnterlökin gibi immnreglatorlerin retimi,
- Büyüme faktörleri retimi,
- Somatik gen tedavisi, sitogenetik, biyokimyasal, moleküler biyolojik çalışmalarda,

- Tumor aşıları,
- Canlı hücrelerin greft amaçlı kullanması,
- Kompleks üç boyutlu dokular ve deri mühendisliğinde (yapay deri, yapay kıkırdak, yapay karaciğer, yapay pankreas),
- Kanser araştırmalarında (in vitro toksikoloji),
- Çeşitli hastalıkların tanı ve araştırılmasında,
- Tüp bebek ve kısırlık tedavilerinde,
- Farmasötik proteinlerin üretiminde ve
- Bitki, hayvan ıslahı ve geliştirilmesi çalışmalarında kullanılır (14, 79, 80).

4.11.2. Hücre Kültürü Avantajları

- Son yıllarda hayvan hakları savunucularının kamuoyunda oluşturdukları baskı nedeniyle hayvan haklarına geçmişe nazaran daha çok önem verildiği düşünülürse hücre kültürü çalışmaları birçok hayvan çalışmasını gereksiz kılacak bir araştırma türüdür (80).
- Hücre kültürü ortamında fizikokimyasal çevre ve buna bağlı olarak fizyolojik koşullar daha iyi kontrol etmek mümkündür. Sıcaklık, pH, ozmotik basınç, O₂ ve CO₂ kısmi basınçları gibi fizikokimyasal koşulları hücre kültüründe daha kolay sağlanırken, canlı vücudunda sabit bir çevreyi oluşturarak bir takım testleri yapmak zordur (79).
- Ağıza yeni uygulandıkları zaman, tam olarak polimerize olmamış materyallerin test hücreleri veya dokuları ile herhangi bir immunolojik etkileşim olmadan teması, gerçek akut kimyasal toksisitenin belirlenmesinde yararlı olmaktadır. Bu da hücre kültürü test yöntemlerinin kullanımı ile sağlanabilir (81).
- Hücre kültürleri ekonomiktir. İn vivo sistemlerde test için organizmaya verilen maddenin bir kısmı çeşitli yollarla dışarıya atılacak, bir miktarı da organizmanın immün sisteminde yok edilecektir. Bu durumlarda canlı bir organizmada, verilen maddenin ancak %10'una bir cevap alabilirken, hücre kültürlerinde bu oran %90'a kadar çıkabilir (79).

- Hücre kültürü test yöntemlerinin kontrol edilebilme olanakları yüksektir ve tekrarlanabilme özellikleri vardır. Ayrıca sonuçlar hücreler üzerindeki etki doğrudan doğruya gözlemlendiği için daha kısa sürede ve daha hızlı alınabilmektedir.
- Kimyasal maddelerin etkileri her cins doku ya da hücrelerde ayrı ayrı araştırılabilir. Organizmadaki karşılıklı etkileşimler nedeniyle yapılamayan araştırmalar in vitro da yapılabilir.
- İstatistik olarak hayvan deneyleriyle karşılaştırılamayacak kadar fazla hücre kullanılabilir.
- Hücre soyları kolayca taşınabilir. Karantina gibi bir sorun olmadığından birbirlerinden uzak ülkelerde de deneyler ve uygulamalar aynı şartlarda yapılabilir (14, 82).

4.11.3. Hücre Kültürü Dezavantajları

- Hücre kültürü çalışmaları ile kimyasal maddelerin davranışlar üzerine olan karmaşık etkileri incelenemez.
- Tek başına doku kültürlerinin yeterli bilgi sağlaması mümkün değildir(in vivo ve in vitro).
- Manipulasyon hataları sonuçları ciddi biçimde etkiler. Deneyim ve uzmanlık gerektiren bir uygulamadır.
- Hücreler kendilerini koruyacak bir immun sistemden yoksun olduklarından çok titiz ve steril bir laboratuvar çalışması gerektirir
- Hücreleri uzun süre dondurmak, biyokimyasal ve genetik değişikliklere sebep olabilir. Ayrıca normal dokulardan elde edilen hücre soyları yavaş yavaş çoğalma potansiyellerini kaybederler.
- Primer kültür ile başlanıldığında birbirini izleyen pasajlarda hücreler farklılaşır ve bir miktar ölüm her zaman gerçekleşir. Yani her zaman istenen saflıkta hücre elde edilemeyebilir (14, 79, 83, 84).

Dişhekimliğinde hücre kültürü çalışmaları kendisine birçok uygulama alanı bulmasına rağmen literatürler incelendiğinde hücre kültürü daha fazla olarak dental materyallerin biyolojik uyumlarının tespitinde sıklıkla başvuru kaynağı olmuştur (14).

Bizim çalışmamızda ise gargaraların insan gingival fibroblastlar üzerine sitotoksik etkisi incelenmiştir.

4.12. Bağ Dokusu ve Ekstraselüler Matriks

Yetişkin bağ dokusunu oluşturan değişik içerikli doku ailesinin esas görevi; vücuda ve organlara şekil vermek, desteklemek ve bölümleri bağlayarak sıkıca bir arada tutmaktır. Ayrıca, diğer dokular arasında besinlerin, oksijenin ve boşaltım ürünlerinin değişimi için bir ortam oluşturarak, konak savunmasına yardım eder.

Yağ dokusunun bulunduğu bölgelerde, tamponlama ve ısı düzenlemesi için yağ depolar. Esas bağ dokusu, kan, kıkırdak ve kemikten oluşan özelleşmiş bağ dokusu tiplerini oluşturur. Hemen hemen tüm bağ dokuları, hangi formda olursa olsun, embriyolojik olarak mezoderminden gelişir; kraniumdaki bazı bağ dokuları krista nöralis ektoderminden köken alır.

Bağ dokusu; hücreler (sabit ve gezici) ve ekstraselüler matriksten oluşur. Ekstraselüler matriks ise amorf esas madde (ground substance) ve içine gömülmüş liflerden meydana gelir. Bağ dokusu hücreleri, fibroblastlar, mast hücreleri, makrofajlar, plazma hücreleri, adipositler (yağ hücreleri) ve perisitleri içermektedir.

Bağ dokusunun birçok fonksiyonu, temelini oluşturan ekstraselüler matriksin özelliklerine bağlıdır. Bağ dokusu histolojik özelliklerine göre, ekstraselüler matriksteki fibröz bileşenlerinin yoğunluğu ve miktarına göre, gevşek (areolar) veya sıkı bağ dokusu olarak sınıflandırılmaktadır. Bağ dokusu tendondaki gibi düzenli, ya da dermisteki gibi düzensiz olabilir (85).

4.12.1.İnsan Gingival Fibroblast (İGF)

Fibroblast bağ dokusunun temel hücresidir. Fibroblastlar, kollagen, elastik ve retiküler lifler ve şekilsiz temel maddeye ait kompleks karbonhidratların sentezinden sorumludur. Tek bir fibroblastın tüm ekstraselüler matriks komponentlerini art arda ya da aynı anda sentezleme kapasitesi vardır.

Fibroblastlar, kollagen liflere oldukça yakında konumlanırlar. Rutin Hemotoksilen Eozinle boyalı preparatlarda, yalnızca çekirdek olarak, bazen de bir çekirdekçikle birlikte uzamış ya da disk şeklinde yapılar olarak görülürler. Sitoplazmanın soluk boyanan esas kısmını oluşturan bölümü, kollagen fibrillerle karışmış olmaları nedeniyle belirgin değildir. Ancak özel olarak hazırlanmış preparatlarda, hücre sitoplazmasını fibröz komponentlerden ayırt etmek mümkün olabilir. Elektron mikroskopik incelemede; fibroblast sitoplazmasının, endoplazmik retikulumu ve golgi aygıtı görülebilir. Aktif büyüme ya da yara iyileşmesi sırasında ekstraselüler matriks materyalinin üretimi artar, fibroblast sitoplazması daha genişler ve endoplazmik retikulum aracılı protein sentezi artar. Buna bağlı olarak hücrede bazofilik görüntü oluşur (86, 87).

Dişeti; gingival fibroblast hücreleri ve hücreler arası ekstrasellüler matriksten oluşur (88). Dişeti bağ dokusunun en önemli hücreleri fibroblastlardır. Lif demetleri arasında çok sayıda fibroblast yer alır. Fibroblastlar mezenşimal orjinlidirler ve gingival bağ dokusunun gelişim, idame ve tamirinde majör rol oynarlar. Kollojen ve elastik lifleri, glikoproteinleri ve glikozaminoglikanları sentezlerler.

Aynı zamanda fagositoz ve kollojenaz sentezi yoluyla kollojen yıkımını da düzenlerler (22). Gingival fibroblastlar fizyolojik şartlarda, ekstraselüler matriksin sentezlenmesi, yıkılması ve idamesi görevleriyle periodontal dokunun önemli hücreleri arasında yer almaktadırlar (88). Periodontal hastalıklarda bağ dokusu ve tabii olarak fibroblastlar etkilenmektedir. Bu durumda araştırmacıların daha çok gingival fibroblast kültürü çalışmalarına yön vermelerine katkısı olmuştur.

Periodontal enfeksiyon ile ortaya çıkan doku yıkımı, periodontopatojenler ile konak periodonsiyumunda yer alan hücreler arasındaki etkileşim sonucunda oluşmaktadır (89). Periodontal hastalıkta enflamatuvar olayların başlamasına ve ilerlemesine neden olan sitokinler, bağ dokusu yıkımından kemik kaybına kadar pek çok patolojik olaydan sorumludurlar (90).

Ayrıca PMNL'lerin de periodontal hastalıklar gibi iltihabi hastalıklar süresince patojenik bakterilere karşı konak cevabının primer mediatörleri olduğu birçok kez rapor

edilmiştir (17, 91). PMNL'lerden ROT gibi birçok antimikrobiyal faktörün üretildiği gösterilmiştir (92).

4.13. Reaktif Oksijen Türleri

ROT kaynağını moleküler oksijenden alan bir grup kimyasal reaktif moleküllerdir. ROT, çeşitli hücresel mekanizmaların regülasyonunda önemli vazifeleri olduğu gibi canlı organizmalarda ciddi yıkımlara neden olabilecek birçok zararlı etkilere de sahiptirler (93, 94).

Aslında, ROT terimi serbest oksijen radikallerinin yanı sıra radikal olmadığı halde hücre içi ve dışı ortamlarda radikal oluşturabilme kabiliyeti gösteren diğer reaktif türlerinin de dahil olduğu bir kullanımdır (95),(17).

ROT'un zararlı maddelere karşı hücresel cevap geliştirmesi, hücresel haberleşme, mitojenik cevap ve çeşitli reseptörler yoluyla sinyal yollarını aktive etme gibi kabiliyetler yararlı etkilerindendir (96). Mikroorganizmalara karşı cevapta SR'nin oluşumu, fizyolojik bir durumdur. ROT'un gereğinden fazla salgılanması DNA 'yı da içermek üzere hücre düzeyinde biyomoleküler hasarı meydana getirebilir (94).

ROT'ların canlı organizmalar üzerine sebebiyet verdiği zarara oksidatif hasar denir. ROT'lar pek çok kaynak kökenli olabilir (97). Ultraviyole ışınlar χ ve γ radyasyon, ısı, terapötik ilaçlar gibi kaynaklar da dışarıdan etkileyerek ROT üretiminin gerçekleşmesine neden olabilirler(98). Bu gibi şekillenen ROT'lara dış kaynaklı ROT denir. Ayrıca PMNL aktivasyonları (99, 100) ve mitokondriyal metabolizmaya benzer hücresel fonksiyonlar yolu ile doğal olarak üretilen ROT'a iç kaynaklı ROT denir. Ayrıca tütün kullanımı, kronik fazla egzersiz gibi bazı aktiviteler de ROT sentezi sonucu ortaya çıkan oksidatif hasara katkıda bulunurlar (93).

ROT moleküler seviyede, serbest oksijen radikalleri ve non-radikal moleküller olarak iki sınıfta değerlendirilebilir. Serbest oksijen radikalleri bir ya da daha çok eşlenmemiş elektronu var olan ve serbest şekilde görülebilen bir kimyasal molekül grubudur. Non-radikallerse hasar oluşturabilecek radikal yeteneklere sahip olmasalar da SR oluşturma potansiyeline sahip moleküllerdir (92).

Serbest oksijen radikalleri ile non-radikal moleküllerin birbirleri ile etkileşerek yeni bir radikal oluşumuna sebep olabilmeleri her iki grup için de önemli bir özelliktir. Başlıca en çok görülen serbest radikal moleküller hidroksili radikal ($\text{OH}^\cdot$), nitrik oksit ($\text{NO}^\cdot$) ve süperoksittir ($\text{O}_2^\cdot$). Diğer yandan hidrojen peroksitin (H_2O_2) ve singlet oksijenin ($^1\text{O}_2$) de aralarında bulunduğu bir grup molekül ise non-radikaller sınıfındadır (91).

4.14. Oksidatif Stres

Oksidatif stres; çeşitli hücre ve hücre dışı hasara neden yeteneğine sahip olan bileşenlerden serbest oksijen radikalleri ve antioksidan savunma sistemiyle bu türlerin etkisizleştirilmesi arasındaki dengesizliğin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Artmış oksidatif stresin zararlı etkileri oksidatif hasar olarak adlandırılır (20).

Periodontitiste, periferik kan nötrofillerinden salınan yüksek miktarda ROT, azalmış antioksidan kapasite ve artmış oksidatif stres biyomarkırları rapor edilmiştir (101). Aşırı artmış ROT seviyesi protein, lipid mekanizması ve DNA'da hasara yol açabilir. Oksidatif stres; diyabet, nörodejeneratif hastalıklar,(102) romatoid artrit, vasküler hastalıklar, (95) Behçet hastalığı, sistemik lupus eritematozus, multiple skleroz ve Guillain-Barre sendromu gibi çok sayıda otoimmün, kronik hastalıkların patogeneğinde yer almakta olduğu birçok çalışmada yer almaktadır (103).

DNA hasarı, DNA 'da oluşan modifikasyonlar, mutasyonlara ve genetik düzensizliklere sebep olduğu için ROT ile indüklenen hücresel değişikliklerin en önemlilerindendir (104). Oksidatif hasar nedenli DNA' da tek ve çift dal kırıkları, kontrolsüz baz dizilimi, baz değişiklikleri ve DNA- protein arasında çapraz bağlanma oluşabilir (105).

ROT; lipid peroksidasyonu, protein ve DNA hasarı önemli enzimlerin oksidasyonu ve pro-inflamatuar sitokin salınımının stimülasyonu gibi çok çeşitli mekanizmalar ile doku hasarına sebep olabilmektedirler (106).

4.15. Total Oksidatif Durum (TOS)

Oksidatif stresin net belirlenebilmesi için oksidatif hasar sonucu ortaya çıkan ürünlerin ölçümü yapılmaktadır (107). Ayrıca farklı oksidan türlerinin serum(plazma) konsantrasyonları laboratuvar ortamında ayrı ayrı ölçülebilir. Ama bu ölçümler zaman alıcı, pahalı, yoğun emek isteyen ve karmaşık teknikler gerektirdiğinden farklı oksidan molekülleri ayrı ayrı ölçümünü yapmak pratik değildir ve onların oksidan etkileri birbirine katkı sağlar (108).

Bu sebepler ile total oksidatif durumun (TOS) ölçülmesinin diğer metodlara göre daha üstün bir metot olduğu kanısına varılmıştır (24, 108). TOS ölçümü, lipid peroksidasyonunun ve oksidatif stresin tespit edilmesinde kullanılan güncel bir metottur (24, 109).

4.16. Antioksidanlar

Bir antioksidan şu şekilde tanımlanabilir; düşük konsantrasyonlarda bile oksitlenebilen bir substrat ile karşılaştığında onun oksitlenmesini önemli derecede önleyen ya da geçiktiren maddelerdir (110).

Antioksidanlar, SR'nin oluşturduğu hasara karşı korunmayı SR'nin oluşumunu engelleyerek, reaktif metabolitleri temizleyip daha az reaktif metabolitlere çevirerek, SR'yi önleyerek, SR'nin sebep olduğu hasarın tamirini kolaylaştırarak ya da diğer antioksidanların etkili çalışabilmesini sağlamak için uygun ortamı tesis etmek gibi farklı mekanizmalar ile sağlayabilirler (106).

4.16.1. Antioksidanların sınıflaması

Antioksidanlar çok çeşitli şekillerde sınıflanabilmektedir (95).

A- Fonksiyonlarına göre antioksidanlar;

- 1- Koruyucu antioksidanlar
- 2- Zincir kırıcı antioksidanlar

B- Lokalizasyonlarına göre antioksidanlar;

- 1- Hücre içi antioksidanlar
- 2- Hücre dışı antioksidanlar
- 3- Membranla ilişkili antioksidanlar

C- Çözünürlüklerine göre antioksidanlar;

- 1- Suda çözünebilir antioksidanlar
- 2- Yağda çözünebilir antioksidanlar

D- Korudukları yapılara göre antioksidanlar;

- 1- DNA koruyucu antioksidanlar
- 2- Protein koruyucu antioksidanlar
- 3- Lipid koruyucu antioksidanlar

E- Kaynaklarına göre antioksidanlar;

- 1- Ekzojen antioksidanlar
- 2- Endojen antioksidanlar
- 3- Sentetik antioksidanlar

F- Yapılarına göre antioksidanlar;

- 1- Enzimatik antioksidanlar
- 2- Non-enzimatik antioksidanlar

4.17. Total Antioksidan Kapasite (TAS)

Antioksidanlar ROT üretimi engeller, zararlı reaksiyonları önler ve onlara karşı koruma sağlar. Pek çok farklı antioksidanların serum konsantrasyonlarını ve bunların etkilerini ayrı ayrı değerlendirilmesinin maliyetli ve uğraştırıcı olması sebebiyle yeni ve daha pratik total antioksidan kapasite değerlendirme yöntemi geliştirilmiştir (111).

Total antioksidan kapasite testleri bireysel antioksidan türleri arasındaki biyolojik etkileşimine bir genel bakış sağlar ve oksidatif stresin periyotları süresince konak hücre korumasının ne kadar etkili olduğunu gösterir (112). TAS; total protein(çoğunluk %85 albumin), ürik asit, bilirubin, karotenoidler, tokoferol ve askorbik asidin antioksidan kapasitesinden oluşur (103).

TAS değerlendirmesinde, TAS'a dahil olan türlerin kombine etkinliği incelenmiş olur. Bu etki tek tek antioksidanların etkisini toplamından daha büyük olabilir. Bunun yanı sıra TAS tespiti daha keşfedilmemiş ya da ölçümü kolay olmayan antioksidanların da etkinliğini göstermektedir. Tek tek pek çok sayıda deney yapılmasından daha etkili, daha ucuz ve kolay bir tekniktir (112).

4.18. Laktat Dehidrogenaz (LDH)

LDH laktat ve piruvatın birbirine dönüşmesini katalizleyen bir enzimdir. Geniş çapta dokularda mevcuttur. Özellikle böbrek, iskelet kası, karaciğer ve kalp kasında bol miktarda bulunur (113). Bu nedenle patolojik hallerin bazıları, LDH aktivitesi yükselmesine sebep olabilir (114).

LDH, miyokard enfarktüsü, hematolojik hastalıklar, hipoksi ile birlikte olan dolaşım yetmezliği gibi hastalıklarda normalin beş mislinden daha fazla artar (115). Bu da hastalıklarda tanı açısından önemlidir (116).

LDH anaerobik glikolitik yolda, hücrelerin nekrozu ile açığa çıkan sitoplazmik bir enzimdir, doku sıvılarında ekstraselüler olarak bulunması hücre ölümünün bir göstergesidir (117). Dişeti cep sıvısında serumdan 15-20 kat daha çok görülür (118).

Ayrıca Lamster ve ark. diş eti cep sıvısında total LDH aktivitesinin enflamasyonla ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (119). Bazı  alışmalarda LDH'ın periodontal hastalıklar ile sıkı bir ilişkide olduğu belirtilmesine karşın,(120-122) bazı çalışmalarda da böyle bir ilişki olmadığı görülmüştür (123-125).

LN, KHG, BHCl, GG gibi solüsyonlar sitotoksik etkileri tam olarak bilinmemekle beraber dünya çapında en çok kullanılan ağız çalkalama solüsyonlarıdır. Bu proje kapsamında bu solüsyonların sitotoksik etkilerinin antioksidan kapasitelerinin incelenmesi suretiyle değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

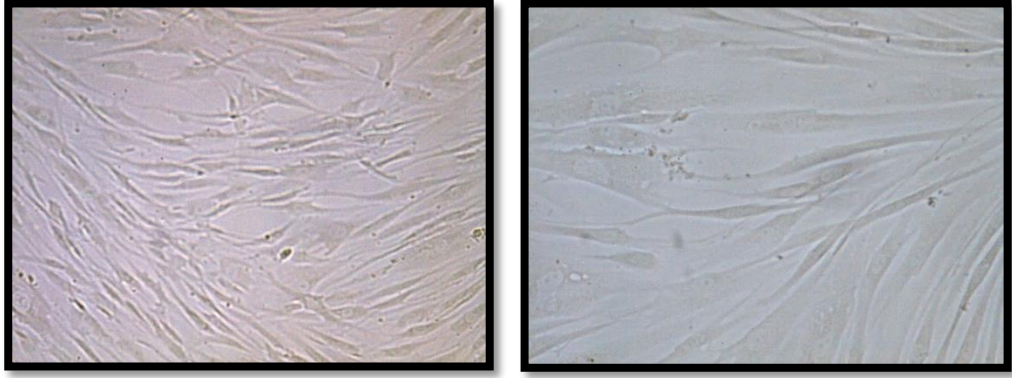
Bu amaçla, çalışmada ağız çalkalama solüsyonlarının İGF hücre kültürü üzerine sitotoksik, oksidan ve antioksidan etkileri TAS, TOS, LDH seviyeleri incelenerek araştırılması planlanmaktadır.

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Materyal

5.1.1. Gingival fibroblast hücrelerinin elde edilmesi

Gingival fibroblastlar, Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilimdalı öğretim üyesi Prof.Dr. Sema Hakkı Özcan hanımdan temin edildi. Kendimiz elde etse idik aşağıdaki protokol ve süreçler takip edilecekti (Şekil 5).



Şekil 5. Üremekte olan İGF hücrelerine ait inverted mikroskop görüntüsü

Dişeti papilinden 1x2 mm boyutlarında epitelsiz bağ dokusu örnekleri alınarak taşıma solusyonu Dulbecco's Modified Minimal Essential Medium (DMEM), %10 Fetal Bovine Serum (FBS), 250 µg/ml gentamisin sülfat 1,5 µg/ml Amfoterisin B içerisinde laboratuvara getirildi. Bağ dokusu örnekleri, laminar flow kabin içerisinde petri kabına transfer edilip taşıma solusyonu ile iki defa yıkandı. Ardından doku örnekleri 15 numaralı bistüri ile küçük parçalara ayrıldı. Bölünen doku örnekleri 60 mm'lik petri kaplarına aktarılıp üç kez daha %10 FBS içeren DMEM ile yıkanarak başka bir 60 mm'lik petri kabına transfer edildi. Petri kabında dokuları kaplayacak şekilde 2 ml %10 FBS içeren DMEM ilave edilerek inkübe edildi. Takib eden günde kültür ortamı %10 FBS, 100 U/ml penisilin ve 100 µg/ml streptomisin içeren DMEM ile değiştirilerek idame edildi ve etüvde bekletildi (Şekil 6). Hücrelerin ataçmanı inverted hücre kültürü mikroskopunda takip edildi (Şekil 7).



Şekil 6. Kültüre edilmiş plakların bekletildiği etüv cihazı



Şekil 7. Inverted hücre kültürü mikroskobu (Olympus, USA)

Hücreler kabın yaklaşık 1/4 n  doldurduklarında petri kabının içindeki 2 ml besiyeri aspire edildi. Petri kabı içerisindeki hücreler 2 ml serum içermeyen media ile yıkanarak ortamın tripsin enziminin çalışması için uygun hale gelmesi sağlandı ve 1,5 ml Tripsin-EDTA kültür kabına ilave edildi. Beş dakika, % 5 CO2 içeren su bazlı

inkübatör içerisinde bekletilerek hücrelerin birbirlerinden ve kap yüzeyinden ayrılması sağlandı.

Hücre kültür kabının içerisine 2 ml % 10 FBS içeren DMEM besiyeri aktarıldı ve Tripsin-EDTA'nın aktivitesi sonlandırıldı. Petri kabından toplanan hücre süspansiyonu oda ısısında 2500 rpm'de 3 dakika santrifüj edilerek tüpün tabanında hücre peletinin oluşması sağlandı. Oluşan hücre peleti 2 ml % 10 FBS içeren DMEM ile süspanse edilip 100 mm'lik petri kabı içerisinde bulunan media ile karıştırıldı (Şekil 8).

Böylece İGF hücrelerinin 1. pasajları yapıldı. Yirmidört saat sonra kültür kabının içerisindeki besiyerinin tamamı alınarak 8 ml yeni besiyeri eklendi. Devam eden günlerde gūnaşırı petrilerin besiyeri değıştirildi. Hücreler kültür kabının 3/4'lük kısmını kapladığında, İGF kültürü elde edilmiş oldu.



Şekil 8. Çalışmamızda kullanılan santrifüj makinası

5.1.2. Fibroblastların Alt Kùltürü

Bir tek tabaka halinde büyüyen hücreler titreme, manyetik karıştırma gibi fiziksel yöntemlerle veya proteolitik enzimler(tripsin) ve şelatör (kenetleme) maddeler (Etilen diamine tetra asetik asit [EDTA]) gibi kimyasal metodlar ile alt kùltüre edilebilir.

Fibroblast alt kùltürleri, primer kùltürden harcanan medyum, doku parçalarının bir kaç defa steril fosfatlı tampon tuzlu su ile (PBS) ve fibroblastları yapıştıkları yerden kaldırmak için 0.5 - 0.8 ml tripsin ve EDTA ile yıkanması gibi süreçlerden sonra elde edilir.

Tripsin ve EDTA ile muamele edilen hücrelerin kùltür flasklarından ayrıldığı görüldükten sonra; hücreler 37°C’de 2 dakika inkübe edildi. Hücreler nazik bir şekilde davranılarak flasklardan uzaklaştırıldı ve enzim aktivitesi 5-8 ml %10’luk fetal sığır serumu içeren DMEM eklenerek durduruldu. Hücreler 3., 4. ve 5. Pasajlar için benzer bir yöntem ile kùltüre edildi. Gingival fibroblastlar tüm deneyler için 6 pasaj kullanıldı (Şekil 9).



Şekil 9. Zamanlara göre uygulanan kùltüre edilmiş plaklar

5.1.3. Kullanılacak Ağız Gargaraları İle Fibroblast Kùltürlerinin Maruz Bırakılması İçin Yapılan Deney Dizaynı

Doku fibroblast kùltürü ve alt kùltürleri için işlemenden geçirildi ve dzenlendi. Fibroblast proliferasyonuna antiplak ajanların etkisi değerlendirildi. Piyasadaki mevcut gargara solüsyonları % 100 olarak göz önüne alındığında 0 mg/l-%0, 2,5mg/l-%1, 5mg/l-%2, 12,5 mg/l-%5, 25mg/l-%10, 62,5 mg /l-%25, 125 mg/l-%50, 250 mg/l-%100 şeklinde anti-plak ajanlar seyreltildi (şekil 10).

Kùltüre edilmiş fibroblastlar dört gruba ayrıldı. Kontrol grubu herhangi bir ağız çalkalama solüsyonuna maruz bırakılmadı.

- 1.grup: Klorheksidin glukonat (KHG grubu ma ruz kalan)
- 2.grup: Listerine için maruz kalan (LN grubu)
- 3.grup: Benzadamin HCI için maruz kalan (BHCI grubu)
4. grup: Gengigel için maruz kalan (GG grubu)



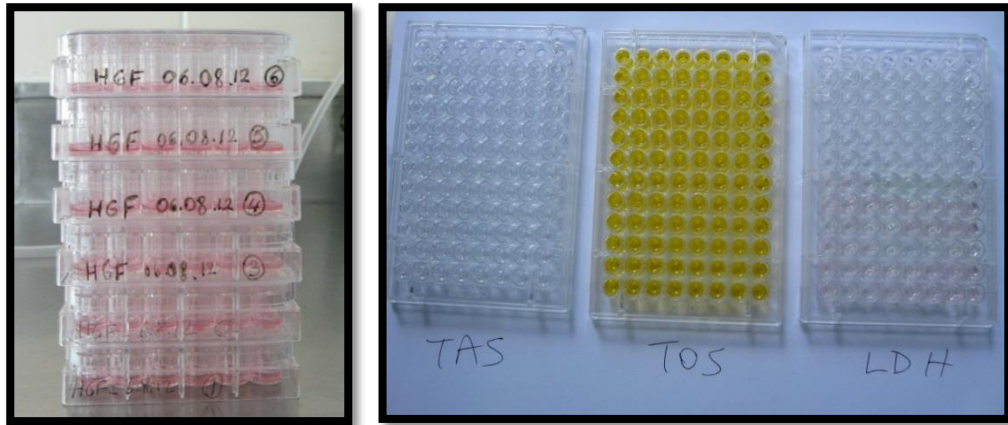
şekil 10. Kullanılan ağız çalkalama solüsyonlarının ticari preparatları

96 kuyucuklu kültür plakları kullanılarak, gingival fibroblastlar 1.16 mg L-glutamine/ml, 100 ünite penicillin/ml, 100 mg streptomycin/ml, 10% FBS ile DMEM içeren büyüme ortamına ekilmiş ve yapışması, büyümesi için 37°C’de tutuldu.

24 saat sonra hücreler KHG, LN, GG ve BHCI içeren çeşitli konsantrasyonlardaki (0 mg/l- %0, 2,5 mg/l- %1, 5mg/l- %2, 12,5 mg/l-%5, 25mg/l-%10, 62,5 mg /l- %25, 125 mg/l- %50, 250 mg/l- %100 olarak verilen) DMEM medyumuna inkübe edildi.

Kimyasal ajanları içeren ortamlar çökeltme reaksiyonundan kaçınmak için serumsuz olarak tasarlandı. Tüm kültür örnekleri yukarıda verilen konsantrasyonlara 1, 5 ve 15 dakikalığına maruz bırakıldı.

Kontrol grubu hücreleri ise ağız gargaraları tatbik edilmeden aynı şartlar sağlanarak düzenlendi. Üretilen hücreler spektrofotometrik analiz ile değerlendirildi (Şekil 11).



Şekil 11. Spektrofotometrik analizde kullanılmak üzere hazırlanmış 96 kuyucuklu plaklar

5.1.4.TAS Düzeyinin Belirlenmesi

TAS düzeyi tespitinde, ilk olarak Tomasch *et al.* (2001) tarafından uygulanan fotomerik yöntem kullanıldı. Bu yöntem 2-2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sülfonat = ABTS⁺) radikal katyonunun oluşumunu inhibe edecek antioksidan

kapasitenin tespitini temel almaktadır. Tespit işleminde Rel Assay Diagnostics® firması tarafından üretilen TAS (total antioxidant status) ticari kitleri kullanıldı (126).

Kitin İçerdiği Bileşenler

- Reaktif 1 Solüsyonu: 50 ml
- Reaktif 2 Solüsyonu: 10 ml
- Standard 1 Solüsyonu: 10 ml
- Standard 2 Solüsyonu: 10 ml

Çalışma Prosedürü

30 µl plazma örneğinin bulunduğu kuvartz küvete 500 µl Reaktif 1 solüsyonundan ilave edilerek 660 nm’de ilk absorbansı okundu. Daha sonra aynı küvete 75 µl Reaktif 2 solüsyonundan eklenerek oda sıcaklığında 10 dk. bekletildi. Bekleme sonunda 660 nm’de ikinci kez absorbansı okundu.

Elde edilen absorbans değerleri ve aşağıdaki formül kullanılarak TAS düzeyleri mmol Trolox Equiv./L cinsinden tespit edildi.

$$\text{TAS (mmol Trolox Equiv./L)} = [(\Delta\text{Standart 1'in değeri}) - (\Delta\text{Örneğin değeri})] / [(\Delta\text{Standart 1'in değeri}) - (\Delta\text{Standart 2'nin absorbansı})] \times 20$$

5.1.5. TOS Belirlenmesi

TOS (total oksidan durumu), tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir. İncelenen numunede bulunan oksidanlar ferroz iyon-o-dianisidin yapısını ferik iyonla oksitlerler. Bu reaksiyonu ortamda bulunan gliserol yaklaşık üç kat hızlandırmaktadır. Asidik ortamda ferrik iyonlar “xylenol orange” ile renkli bir kompleks meydana getirirler.

Numunede bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülerek değerlendirme yapılır. Araştırmamızda Rel Assay Diagnostics® firması tarafından üretilen TOS (total oxidant status) ticari kitleri kullanıldı.

Kitin İçerdiği Bileşenler

- Reaktif 1 Solüsyonu: 50 ml
- Reaktif 2 Solüsyonu: 10 ml
- Standard 1 Solüsyonu: 10 ml
- Standard 2 Solüsyonu: 10ml

Çalışma Prosedürü

75 µl plazma örneğinin bulunduğu *kuvartz küvete* 500 µl Reaktif 1 solüsyonundan ilave edilerek 530 nm’de ilk absorbansı okundu. Daha sonra aynı küvete 25 µl Reaktif 2 solüsyonundan eklenerek oda sıcaklığında 10 dk. bekletildi. Bekleme sonunda 530 nm’de ikinci kez absorbansı okundu.

Elde edilen absorbans değerleri ve aşağıdaki formül kullanılarak mmol TOD düzeyleri Trolox Equiv./L cinsinden tespit edildi.

$$\text{TOD } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}) = (\Delta\text{Örneğin değeri}/\Delta\text{Standart 2'nin değeri}) \times (\text{Standart 2 değeri})$$

5.1.6. Laktat dehidrogenaz(LDH) Tayini

Laktat dehidrogenaz sitoplazmada bulunan bir çözünür enzimdir. Enzim apoptozis ve nekroz süreci sırasında hücre hasarı ve lizis nedenli çevre kültür ortamına salınır. Kültür ortamı içerisindeki LDH aktivitesi bu nedenle hücre zarı bütünlüğünün ve dolayısıyla sitotoksite ölçümünün bir göstergesi olarak kullanılır.

Kültür ortamındaki hücrelerin sayısına karşılık gelen hücre içi LDH aktivitesinin yanı sıra hücre lizatlarındaki LDH miktarı hücre büyümesinin ölçümünde kullanılabilir.

Cayman'ın LDH sitotoksite kiti çevresel faktörler ya da kimyasal bileşenlere cevap olarak hücre ölümünü 2 aşamalı reaksiyon ile ölçmektedir. İlk adım olarak LDH, NAD⁺'in NADH ve H⁺ redüksiyonu aracılığıyla Laktatı piruvata oksidasyonunu katalizler. Reaksiyonun ikinci aşamasında, diphorase 490-520 nm'de absorbe eder son derece güçlü bir şekilde renkli formazan için tetrazolyum tuzu (INT) azalması katalize etmek için yeni kurulan NADH ve H⁺ kullanır. Üretilen formazan miktarı sitotoksisite sonucu olarak kültür ortamına salınan LDH miktarı ile orantılıdır.

Çalışma prosedürü

400 g'de 5 dakika 96 kuyucuklu kültür plakları santrifüj edildi. Yeni bir 96 kuyucuklu kültür plakları kullanılarak, hazırlanmış olan standardın 100 µl'sini uygun plaklar aktarıldı. Yeni bir plak üzerinde karşılık gelen her bir kuyucuk için kültür hücrelerinin her kuyucuğundan her bir supernatan'ın 100µl'sini aktarıldı. Her kuyucuğa, tekrarlanan bir pipet ile reaksiyon çözeltisinin 100µl'si (bir yukarda hazırlanmış olan) eklendi. Oda sıcaklığında 30 dakika boyunca orbital çalkalayıcı üzerinde nazikçe çalkalayarak plaklar inkübe edildi. 490nm' de bir plak okuyucu ile absorbansı okundu. Örneğin konsantrasyonunu hesaplamak için ise şu formül kullanıldı;

$$\text{LDH aktivitesi}(\mu\text{U}) = \frac{(A_{490\text{nm}} - y\text{-intercept})}{\text{slope}}$$

$$\text{Örnekte Total LDH aktivitesi}(\mu\text{U/ml}) = \frac{\text{LDH aktivitesi testinden elde edilen değer}(\mu\text{U})}{\text{test edilen X örnek hacmi (genellikle 0.1ml)}}$$

Testin Hassasiyeti tahlil edilen hücre tipine bağlı olarak, 10³ gibi az sayıda dahi hücre tespit edilebilmektedir.

5.2. İstatiksel Analiz

İstatiksel karşılaştırmalar SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) programı ile yapılmıştır. Graplardan elde edilen değerler ortalama±standart sapma ya da standart hata(Ort.±S.D./S.E.M.) olarak ifade edildi. Verilerimizin değerlendirilmesinde ONE-WAY ANOVA; Scheffe Post Hoc testi uygulandı. Bu değerlerin istatiksel analizlerinde ve $P < 0,05$ 'in altındaki farklılıklar anlamlı olarak değerlendirildi.

6. BULGULAR

6.1. Kùltùrlerde LDH Seviyelerinin Değerlendirilmesi

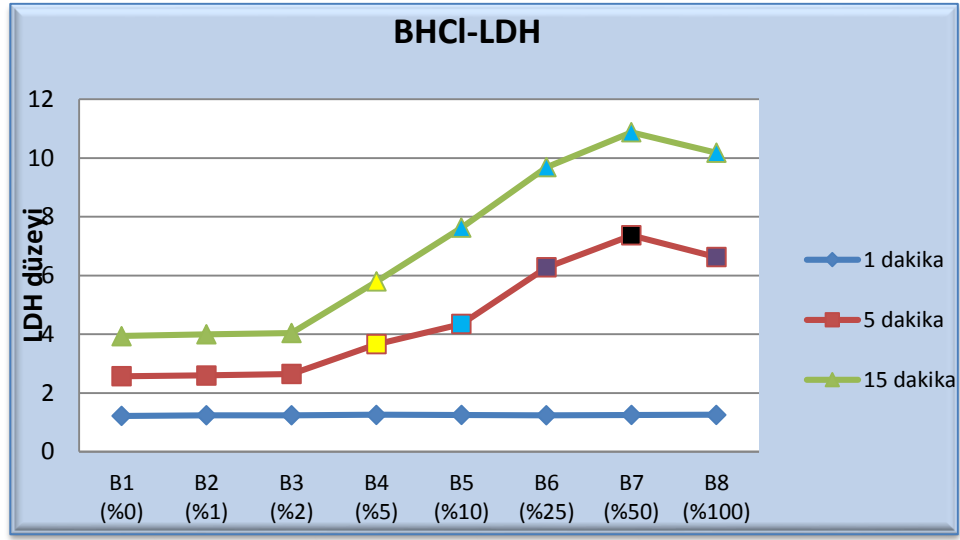
6.1.1. Ağız alkalama Solùsyonlarının Kùltùrlerde Doza ve Zamana Bağlı Olarak LDH Seviyelerinin Değerlendirilmesi

Çalışmamızda dùrt farklı ağız çalkalama solùsyonu ile muamele edilen kùltùrlerde doza ve sùreye bağlı oluşan sitotoksik etkinin değerlendirilmesi için LDH seviyelerine bakıldı. Deęerlendirmelerimize gùre, BHCl ile 1 dakika muamele edilen kùltùrlerde LDH seviyesinde doza bağlı istatistiksel bir artış izlenmedi ($p>0.05$). 5 ve 15 dakika muamele edilen kùltùrlerde ise %5'lik konsantrasyondan sonra LDH seviyesinde istatistiksel anlamlı bir artış olduğu gùrùldù ($p<0.05$). BHCl'ùn bùtùn konsantrasyonları ile muamele edilen kùltùrlerde zamana bağlı LDH seviyesinde istatistiksel anlamlı bir artış olduğu gùrùldù ($p<0.05$) (Tablo 1).

Tablo 1. BHCl ile muamele edilen kùltùrlerde LDH seviyelerinin sùreye bağlı olarak değerlendirilmesi

Konsantrasyonlar	1 dakika	5 dakika	15 dakika
B1(0 mg/l-%0)	1.22 $\pm$ 0.084	1.35 $\pm$ 0.062*	1.37 $\pm$ 0.070*
B2(2,5mg/l-%1)	1.24 $\pm$ 0.075	1.36 $\pm$ 0.063*	1.40 $\pm$ 0.058*
B3(5mg/l-%2)	1.24 $\pm$ 0.063	1.41 $\pm$ 0.05*	1.39 $\pm$ 0.058*
B4(12.5 mg/l-%5)	1.26 $\pm$ 0.053	2.40 $\pm$ 0.184*	2.13 $\pm$ 0.532*
B5(25mg/l-%10)	1.25 $\pm$ 0.071	3.10 $\pm$ 0.436*	3.27 $\pm$ 0.456*
B6(62.5 mg /l-%25)	1.24 $\pm$ 0.045	5.03 $\pm$ 0.434*	3.41 $\pm$ 0.427 [#]
B7(125 mg/l-%50)	1.25 $\pm$ 0.055	6.11 $\pm$ 0.173*	3.51 $\pm$ 0.450 [#]
B8(250 mg/l-%100)	1.26 $\pm$ 0.056	5.36 $\pm$ 0.359*	3.55 $\pm$ 0.416 [#]

*,[#] $p<0.05$ aynı satırdaki veriler arasındaki istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.



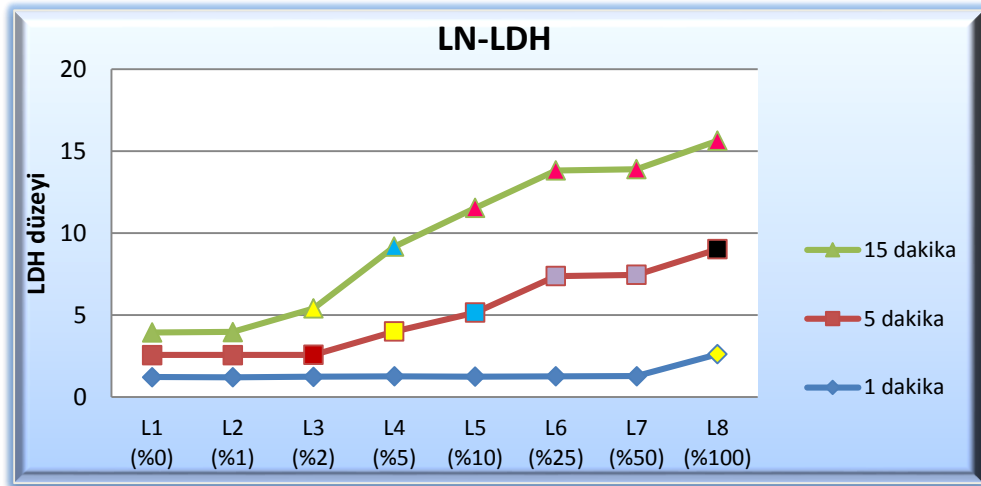
Şekil 12. BHCl uygulanan grubun doza bağlı LDH seviyesi

LN ile muamele edilen kültürlerde 1 dakikalık muamelede %100 lük konsantrasyonda LDH seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu görülürken ($p<0.05$), 5 dakika muamele edilen kültürlerde %5lik konsantrasyondan itibaren doza bağlı olarak LDH seviyesini istatistiksel olarak anlamlı derecede artırdığı görüldü ($p<0.05$). 15 dakika LN ile muamele edilen kültürlerde ise LDH seviyesinin LN'in %2'lik konsantrasyonundan itibaren doza bağlı arttığı izlendi ($p<0.05$). Ayrıca LN'nin kültürlerde zamana bağlı istatistiksel anlamlı derecede LDH seviyesini artırdığı görüldü ($p<0.05$) (Tablo 2).

Tablo 2. LN ile muamele edilen kültürlerde LDH seviyelerinin süreye bağlı olarak değerlendirilmesi

Konsantrasyonlar	1 dakika	5 dakika	15 dakika
L1 (0 mg/l-%0)	1.22 ± 0.049	1.35 ± 0.062*	1.37 ± 0.07*
L2 (2,5mg/l-%1)	1.21 ± 0.075	1.36 ± 0.063*	1.40 ± 0.058*
L3 (5mg/l-%2)	1.24 ± 0.073	1.33 ± 0.07	2.83 ± 0.087*
L4 (12.5 mg/l-%5)	1.27 ± 0.056	2.73 ± 0.102*	5.17 ± 0.146 [#]
L5 (25mg/l-%10)	1.25 ± 0.055	3.89 ± 0.107*	6.40 ± 0.115 [#]
L6 (62.5 mg /l-%25)	1.27 ± 0.038	6.11 ± 0.173*	6.45 ± 0.113*
L7 (125 mg/l-%50)	1.28 ± 0.039	6.17 ± 0.1*	6.44 ± 0.104*
L8 (250 mg/l-%100)	2.61 ± 0.219	6.41 ± 0.14*	6.61 ± 0.184*

*,# $p < 0.05$ aynı satırdaki veriler arasındaki istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.



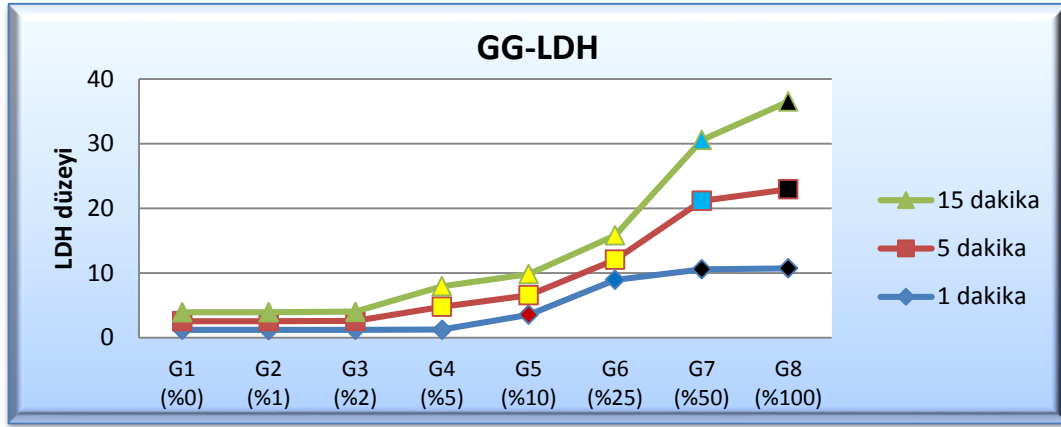
Şekil 13. LN ile muamele edilen kültürlerin doza bağlı LDH seviyesi

GG ile 1 dakika muamele edilen hücre kültürlerinde GG'in %10'luk konsantrasyondan itibaren doza bağlı LDH seviyesinde istatistiksel anlamlı bir artış olduğu görüldü ($p<0.05$). 5 ve 15 dakikalık muamelede ise kültürlerde LDH seviyesinde %5'lik GG konsantrasyonundan itibaren doza bağlı istatistiksel anlamlı artış olduğu izlendi ($p<0.05$). GG ile muamele edilen bütün kültürlerde zamana bağlı LDH seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görüldü ($p<0.05$) (Tablo 3).

Tablo 3. GG ile muamele edilen kültürlerde LDH seviyelerinin süreye bağlı olarak değerlendirilmesi

Konsantrasyonlar	1 dakika	5 dakika	15 dakika
G1(0 mg/l-%0)	1.22 ± 0.083	1.35 ± 0.068*	1.37 ± 0.674*
G2(2,5mg/l-%1)	1.20 ± 0.079	1.36 ± 0.063*	1.40 ± 0.083*
G3(5mg/l-%2)	1.22 ± 0.084	1.38 ± 0.041*	1.42 ± 0.072*
G4(12.5 mg/l-%5)	1.24 ± 0.055	3.55 ± 0.34*	3.17 ± 0.312 [#]
G5(25mg/l-%10)	3.52 ± 0.247	3.03 ± 0.342	3.26 ± 0.326
G6(62.5 mg /l-%25)	8.92 ± 1.044	3.13 ± 0.426*	3.75 ± 0.154*
G7(125 mg/l-%50)	10.59 ± 0.445	10.57 ± 0.35	9.42 ± 0.876*
G8(250 mg/l-%100)	10.71 ± 0.254	12.25 ± 0.378*	13.56 ± 0.989 [#]

^a*,[#] $p<0.05$ aynı satırdaki veriler arasındaki istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.



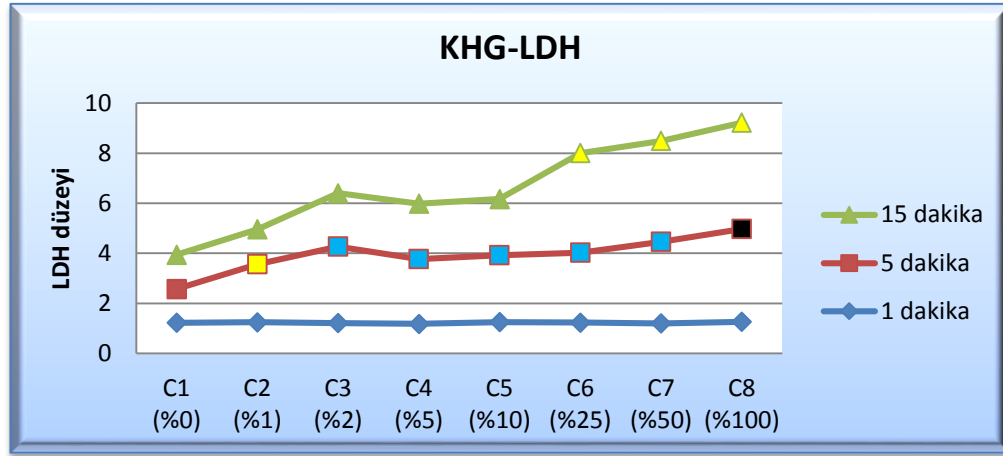
Şekil 14. GG ile muamele edilen kültürlerin doza bağlı LDH seviyesi

KHG ile 1 Dakika muamele edilen kültürlerdeki hücrelerde LDH seviyesinde doza bağlı istatistiksel anlamlı bir artış görülmedi ($p > 0.05$). 5 Dakika muamele edilen kültürlerde ise %1'lik KHG konsantrasyonundan sonra LDH seviyesinde doza bağlı istatistiksel anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0.05$). 15 dakika muamele edilen kültürlerde ise %25 lik konsantrasyondan itibaren doza bağlı istatistiksel anlamlı bir artış görüldü ($p < 0.05$). KHG'nin bütün konsantrasyonları ile muamele edilen kültürlerde toksisitenin göstergesi olan LDH seviyesinde zamana bağlı istatistiksel olarak anlamlı artış izlendi ($p < 0.05$) (Tablo 4).

Tablo 4. KHG ile muamele edilen kültürlerde LDH seviyelerinin süreye bağlı olarak değerlendirilmesi

Konsantrasyonlar	1 dakika	5 dakika	15 dakika
C1(0 mg/l-%0)	1,22 ± 0,084	1,35 ± 0,064*	1,37 ± 0,118*
C2(2,5mg/l-%1)	1,24 ± 0,055	2,32 ± 0,297	1,40 ± 0,331*
C3(5mg/l-%2)	1,21 ± 0,081	3,06 ± 0,204*	2,13 ± 0,731 [#]
C4(12.5 mg/l-%5)	1,18 ± 0,083	2,59 ± 0,429*	2,21 ± 0,364*
C5(25mg/l-%10)	1,25 ± 0,062	2,67 ± 0,763*	2,25 ± 0,643*
C6(62.5 mg /l-%25)	1,23 ± 0,087	2,79 ± 0,845*	3,98 ± 0,512 [#]
C7(125 mg/l-%50)	1,20 ± 0,104	3,26 ± 0,439*	4,03 ± 0,357 [#]
C8(250 mg/l-%100)	1,26 ± 0,094	3,71 ± 0,272*	4,25 ± 0,483 [#]

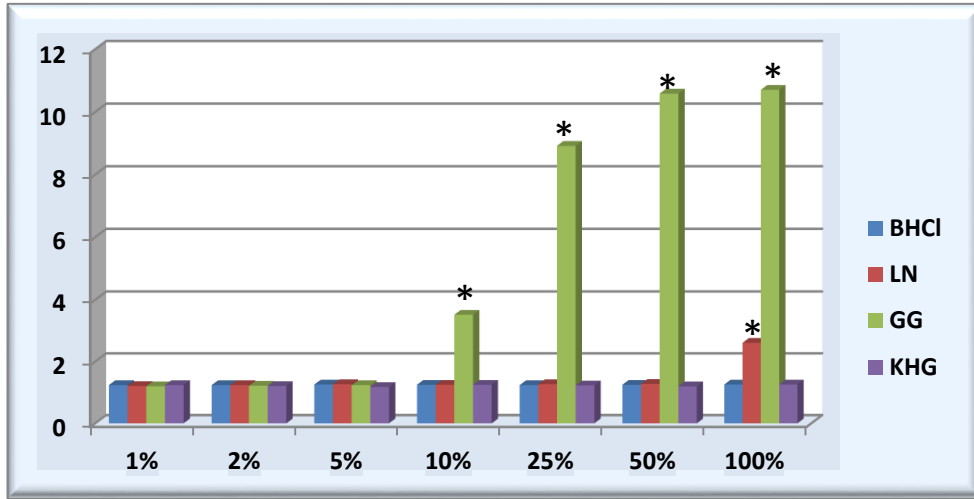
*,[#] Aynı satırdaki verilerin istatistiksel anlamlılığını ifade etmektedir .



Şekil 15. KHG uygulanan kültürlerin doza bağlı LDH düzeyleri

5.1.2. Ağız Çalkalama Solüsyonlarının Kültürlerde LDH seviyeleri üzerine olan etkilerinin Kıyaslanması

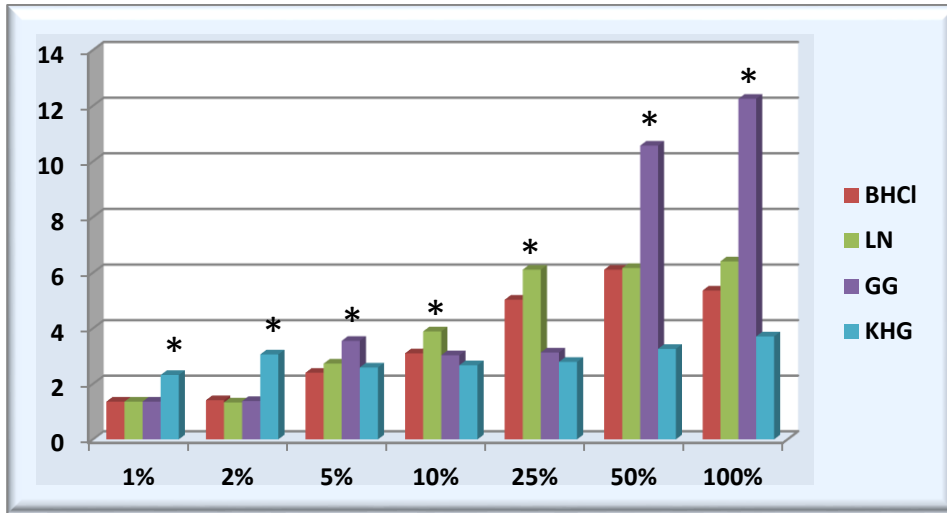
Ağız çalkalama solüsyonlarının kültürlerdeki LDH seviyeleri üzerine olan etkileri kıyaslandığında farklı ağız çalkalama solüsyonları ile 1 dakika muamele edilen kültürlerdeki LDH seviyeleri değerlendirilmesinde %5'lik konsantrasyona kadar kullanılan gargalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p>0.05$). Gargaraların %10, %25, %50'lik konsantrasyonları ile muamele edilen kültürlerde ise GG ile muamele edilen kültürde oluşan LDH seviyesi diğer bütün gargalara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). %100'lük konsantrasyonda ise LDH seviyesi LN ve GG ile muamele edilen kültürlerde diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$) (Şekil 16).



* istatistiksel olarak anlamlılığı ($p < 0.05$) ifade etmektedir.

Şekil 16. BHCl, LN, GG, KHG ile 1 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF doza göre LDH seviyeleri değerlendirilmesi

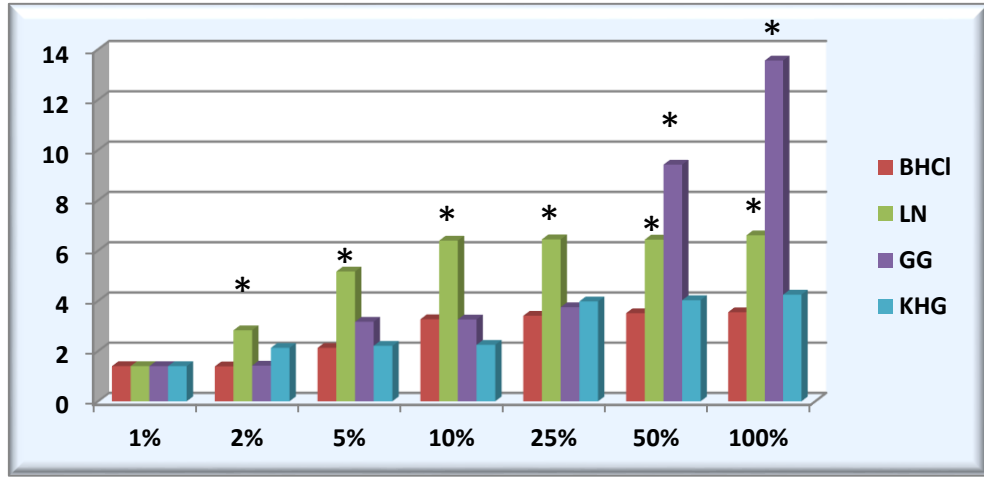
5 dakika süreyle muamele edilen kültürlerde %1 ve %2'lik konsantrasyonlarda KHG ile muamele edilen kültürlerdeki LDH seviyesi diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek izlenirken ($p < 0.05$), artan konsantrasyonlarda KHG ile muamele edilen kültürlerdeki LDH seviyesinin diğer gruplara istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu görüldü ($p < 0.05$). %10 ve %25'lik konsantrasyonlarda LN ile muamele edilen kültürlerdeki LDH seviyesi diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p < 0.05$). %50 ve %100'lük konsantrasyonlarda ise GG ile muamele edilen kültürlerde oluşan LDH seviyesinin diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede artış gösterdiği izlendi ($p < 0.05$) (Şekil 17).



* $p < 0.05$ veriler arasındaki istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

Şekil 17. BHCl, LN, GG, KHG ile 5 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF’ında doza göre LDH seviyeleri değerlendirilmesi

15 dakika süreyle LN ve GG ile muamele edilen kültürlerde oluşan LDH seviyesinin artan konsantrasyonla beraber diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu izlenirken ($p < 0.05$), yine %50 ve %100’lük konsantrasyonlarda GG ile muamele edilen kültürlerdeki LDH seviyesinin diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu görüldü ($p < 0.05$) (Şekil 18).



* $p < 0.05$ veriler arasındaki istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

Şekil 18. BHCl, LN, GG, KHG ile 15 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF’ında doza göre LDH seviyeleri değerlendirilmesi

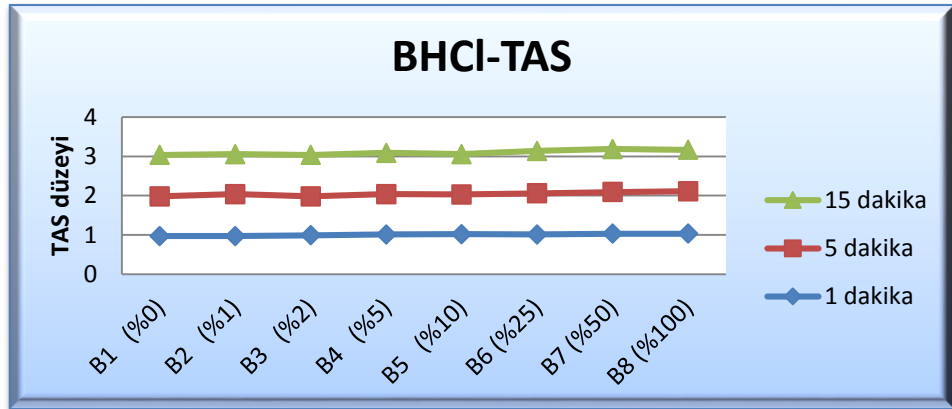
6.2. Ağız çalkalama solüsyonlarının kültürlerde Total Antioksidan Kapasitenin (TAS) seviyelerinin üzerine etkisi değerlendirilmesi

6.2.1. Doza ve zamana bağlı olarak kültürlerde TAS seviyelerinin değerlendirilmesi

Çalışmamızda diğer sitotoksite markırı olarak dikkate aldığımız TAS için değerlendirirken de sırayla kullanılan ağız çalkalama solüsyonlarını tek tek ele alacak olursak; BHCl’in doza ve zamana bağlı hücre kültürlerinin TAS kapasiteleri üzerine istatistiksel anlamlı bir etkisi olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$) (Tablo 5).

Tablo 5. BHCL ile muamele edilen kültürlerde TAS seviyelerinin süreye bağlı olarak değerlendirilmesi

Konsantrasyonlar	1 dakika	5 dakika	15 dakika
B1(0 mg/l-%0)	0.97 ± 0.107	1.01 ± 0.136 ^a	1.06 ± 0.262
B2(2,5mg/l-%1)	0.97 ± 0.167	1.07 ± 0.155	1.02 ± 0.104
B3(5mg/l-%2)	0.99 ± 0.091	0.99 ± 0.221	1.06 ± 0.174
B4(12.5 mg/l-%5)	1.01 ± 0.112	1.03 ± 0.149	1.05 ± 0.188
B5(25mg/l-%10)	1.02 ± 0.217	1.01 ± 0.161	1.03 ± 0.182
B6(62.5 mg /l-%25)	1.01 ± 0.163	1.05 ± 0.123	1.08 ± 0.097
B7(125 mg/l-%50)	1.03 ± 0.131	1.06 ± 0.167	1.10 ± 0.147
B8(250 mg/l-%100)	1.03 ± 0.108	1.08 ± 0.176	1.06 ± 0.121



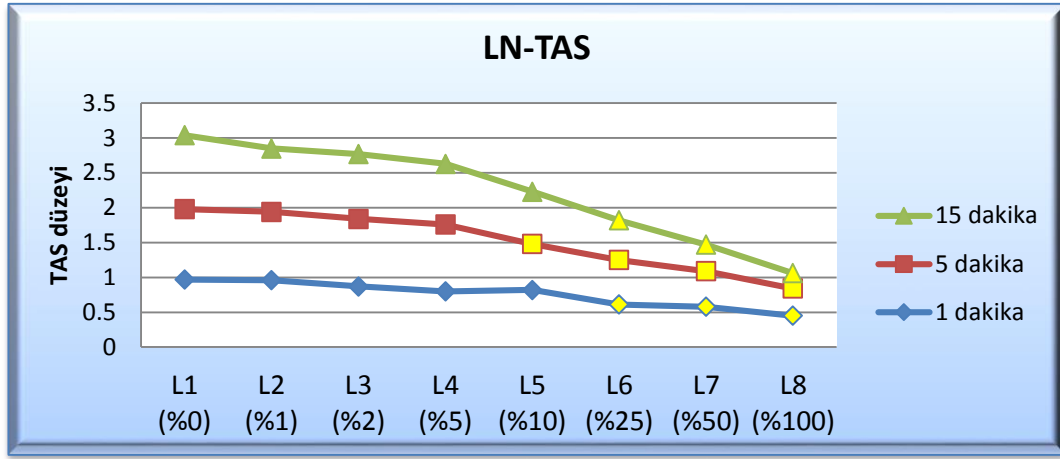
Şekil 19. BHCL ile muamele edilen kültürlerdeki doza bağlı LDH düzeyleri

LN doza bağılı hücrelerde TAS kapasitesini istatistiksel anlamlı derecede düşürmektedir. 1 dakikalık muamelede %25’den itibaren etkilemekte iken, 5 dakikalık muamelede %10’dan itibaren TAS’ı düşürdüğü görüldü. Ayrıca LN’in %100’lük konsantrasyonu ile muamele edilen kültürlerdeki hücrelerde LN’in zamana bağılı TAS seviyesini istatistiksel anlamlı derecede düşürdüğü izlendi (Tablo 6).

Tablo 6. LN ile muamele edilen kültürlerde TAS seviyelerinin süreye bağılı olarak değerlendirilmesi

Konsantrasyonlar	1 dakika	5 dakika	15 dakika
L1 (0 mg/l-%0)	0.97 ± 0.107	1.01 ± 0.136	1.06 ± 0.155
L2 (2,5mg/l-%1)	0.96 ± 0.067	0.98 ± 0.14	0.91 ± 0.305
L3 (5mg/l-%2)	0.87 ± 0.065	0.97 ± 0.21	0.93 ± 0.183
L4 (12.5 mg/l-%5)	0.80 ± 0.161	0.96 ± 0.256	0.87 ± 0.136
L5 (25mg/l-%10)	0.82 ± 0.117	0.66 ± 0,128	0.75 ± 0.247
L6 (62.5 mg /l-%25)	0.61 ± 0.22	0.64 ± 0.13	0.57 ± 0.133
L7 (125 mg/l-%50)	0.58 ± 0.162	0.51 ± 0.16	0.38 ± 0.161
L8 (250 mg/l-%100)	0.45 ± 0.098	0.39 ± 0.063*	0.22 ± 0.083*

**Aynı satırdaki verilerin istatistiksel anlamlılığını ifade etmektedir.*



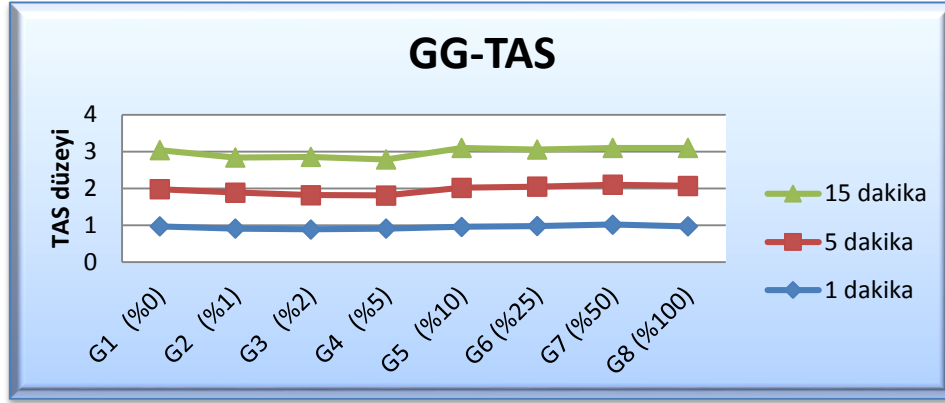
Şekil 20. LN uygulanan kültürlerdeki doza bağlı TAS seviyeleri

GG'in kültürlerdeki hücrelerin tas kapasiteleri üzerine doza bağlı istatistiksel anlamlı bir etkisi olmadığı görüldü ($p > 0.05$). GG'in sadece %2'lik konsantrasyonunda 15 dakikalık muamelede zamana bağlı istatistiksel anlamlı derecede TAS kapasitesini artırdığı görüldü ($p < 0.05$) (Tablo 7).

Tablo 7. GG ile muamele edilen kültürlerde TAS seviyelerinin süreye bağlı olarak değerlendirilmesi

Konsantrasyonlar	1 dakika	5 dakika	15 dakika
G1(0 mg/l-%0)	0.97 ± 0.106	1.01 ± 0.104	1.06 ± 0.174
G2(2,5mg/l-%1)	0.91 ± 0.215	0.98 ± 0.127	0.95 ± 0.184
G3(5mg/l-%2)	0.89 ± 0.063	0.93 ± 0.086	1.04 ± 0.123*
G4(12.5 mg/l-%5)	0.91 ± 0.199	0.90 ± 0.062	0.98 ± 0.127
G5(25mg/l-%10)	0.96 ± 0.167	1.06 ± 0.117	1.08 ± 0.163
G6(62.5 mg /l-%25)	0.98 ± 0.124	1.07 ± 0.121	1.01 ± 0.09
G7(125 mg/l-%50)	1.02 ± 0.136	1.08 ± 0.163	1.00 ± 0.116
G8(250 mg/l-%100)	0.97 ± 0.146	1.1 ± 0.139	1.03 ± 0.159

* $p < 0.05$ %2'lik konsantrasyonda 1 dakika ve 15 dakika muameleler arasındaki istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

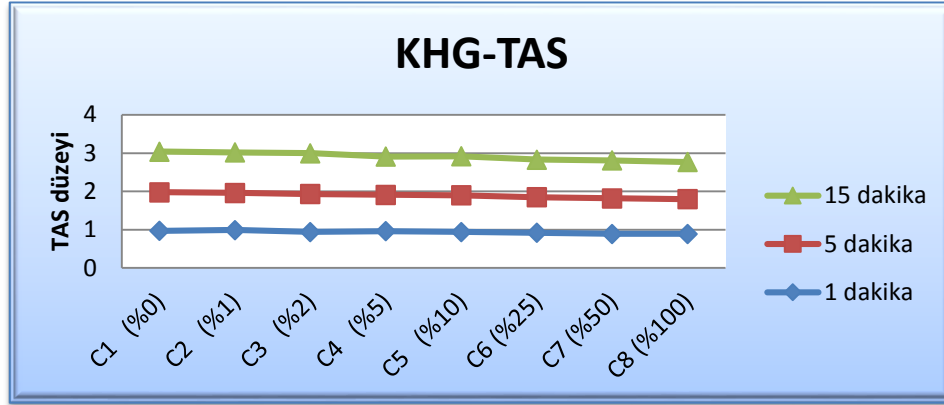


Şekil 21. GG uygulanan kültürlerdeki TAS seviyesinin doza bağlı değişimi

KHG'in hücre kültürlerinde gingival fibroblastların TAS kapasiteleri üzerine istatistiksel anlamlı bir etkisi izlenmedi ($p>0.05$). Ayrıca KHG'nin hücre kültürlerindeki TAS kapasitesi üzerine zamana bağlı istatistiksel anlamlı bir etkisi olmadığı görüldü ($p>0.05$) (Tablo 8).

Tablo 8. KHG ile muamele edilen kültürlerde TAS seviyelerinin süreye bağlı olarak değerlendirilmesi

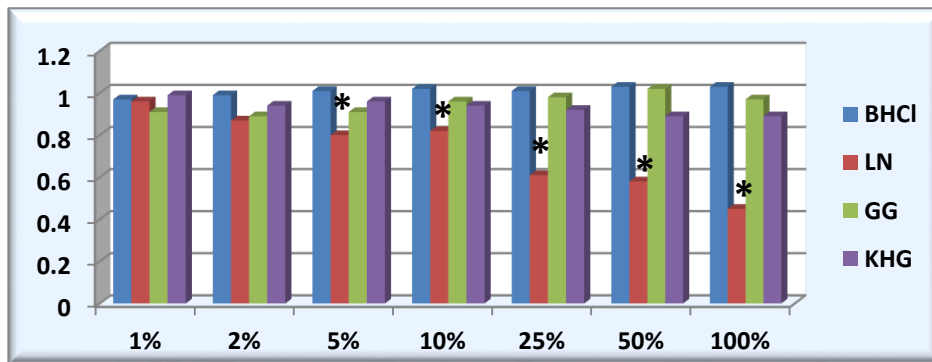
Konsantrasyonlar	1 dakika	5 dakika	15 dakika
C1(0 mg/l-%0)	0.97 ± 0.285	1.01 ± 0.167	1.06 ± 0.173
C2(2,5mg/l-%1)	0.99 ± 0.178	0.97 ± 0.146	1.06 ± 0.303
C3(5mg/l-%2)	0.94 ± 0.078	0.99 ± 0.132	1.07 ± 0.192
C4(12.5 mg/l-%5)	0.96 ± 0.12	0.95 ± 0.085	1.00 ± 0.088
C5(25mg/l-%10)	0.94 ± 0.179	0.96 ± 0.084	1,02 ± 0.062
C6(62.5 mg /l-%25)	0.92 ± 0.115	0.93 ± 0.078	0.98 ± 0.075
C7(125 mg/l-%50)	0.89 ± 0.135	0.93 ± 0.072	0.99 ± 0.11
C8(250 mg/l-%100)	0.89 ± 0.094	0.91 ± 0.086	0.97 ± 0.09



Şekil 22. KHG ile muamele edilen hücre kültürlerinde doza bağlı TAS düzeyi değişimi

6.2.3. Ağız Çalkalama Solüsyonlarının Kültürlerde TAS seviyeleri üzerine olan etkilerinin Kıyaslanması

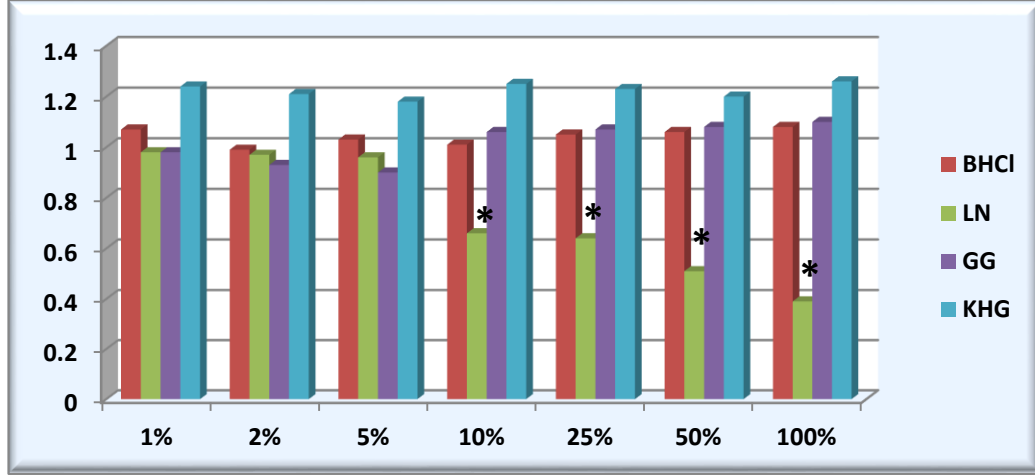
Farklı gargaralar ile farklı sürelerde muamele edilen kültürlerde ağız çalkalama solüsyonlarının hücrelerin TAS üzerine etkileri incelendiğinde; 1 dakika LN ile muamele edilen kültürlerdeki TAS seviyesi diğer gruplara nazaran istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla düştüğü gözlemlendi ($P < 0.05$) (Şekil 23).



* $p < 0.05$ veriler arasındaki istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

Şekil 23. BHCl, LN, GG, KHG ile 1 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF'da doza göre TAS seviyeleri değerlendirilmesi

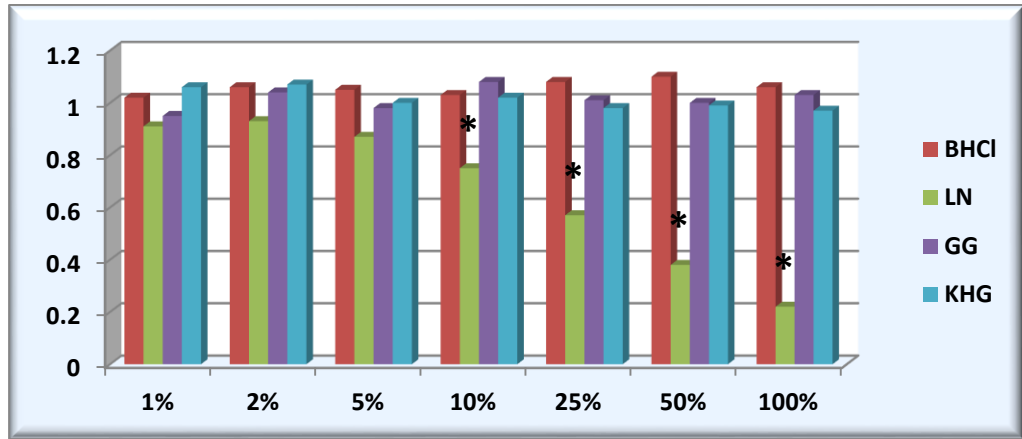
5 dakika farklı gargaralara ile muamele edilen kültürlerde %10, %25, %50, %100'lük konsantrasyonlarda LN ile muamele edilen kültürlerde TAS seviyesi diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha fazla düştüğü izlendi ($p<0.05$) (Şekil 24).



* $p<0.05$ veriler arasındaki istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

Şekil 24. BHCl, LN, GG, KHG ile 5 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF'da doza göre TAS seviyeleri değerlendirilmesi

15 dakika farklı gargaralara ile muamele edilen kültürlerde %10, %25, %50, %100'lük konsantrasyonlarda LN ile muamele edilen kültürlerde TAS seviyesi diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha fazla düştüğü izlendi ($p<0.05$) (Şekil 25).



* $p < 0.05$ veriler arasındaki istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

Şekil 25. BHCl, LN, GG, KHG ile 15 dakika muamele edilen

kültürlerdeki İGF doza göre TAS seviyeleri değerlendirilmesi

6.3. Ağız çalkalama solüsyonlarının kültürlerde TOS seviyelerinin üzerine etkisi değerlendirilmesi

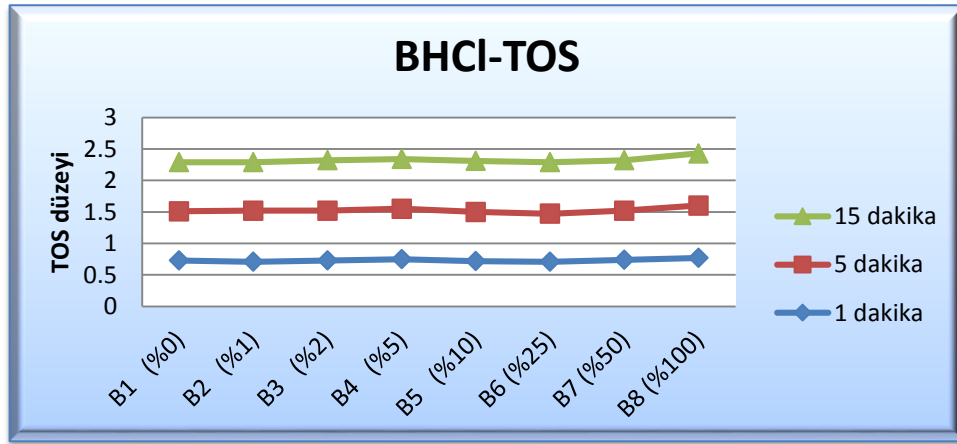
6.3.1. Doza ve zamana bağlı olarak kültürlerde TOS seviyelerinin değerlendirilmesi

BHCl ile 1,5 ve 15 dakikalık muamelelerde kültürlerdeki hücrelere doza bağlı TOS seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir sonuca sebep olmadığı görüldü ($p > 0.05$). BHCl' un uygulamasında zamana göre BHCl 'un %25'lik konsantrasyonunda 1 dakikalık muamele edilen hücreler ile 15 dakikalık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olması ($p > 0,05$) haricinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p < 0,05$)(Tablo 9).

Tablo 9. BHCl ile muamele edilen kültürlerde TOS seviyelerinin süreye bağlı olarak değerlendirilmesi

Konsantrasyonlar	1 dakika	5 dakika	15 dakika
B1(0 mg/l-%0)	0.73 ± 0.202	0.78 ± 0.117	0.78 ± 0.172
B2(2,5mg/l-%1)	0.71 ± 0.115	0.81 ± 0.073	0.77 ± 0.068
B3(5mg/l-%2)	0.73 ± 0.126	0.79 ± 0.05	0.80 ± 0.05
B4(12.5 mg/l-%5)	0.75 ± 0.068	0.80 ± 0.164	0.79 ± 0.06
B5(25mg/l-%10)	0.72 ± 0.074	0.78 ± 0.09	0.81 ± 0.133
B6(62.5 mg /l-%25)	0.71 ± 0.054	0.76 ± 0.057	0.82 ± 0.112*
B7(125 mg/l-%50)	0.74 ± 0.030	0.78 ± 0.055	0.80 ± 0.103
B8(250 mg/l-%100)	0.77 ± 0.172	0.83 ± 0.074	0.83 ± 0.11

* $p < 0.05$ 1 dakikalık uygulamaya göre 15 dakikalık uygulama arasındaki zamana göre istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.



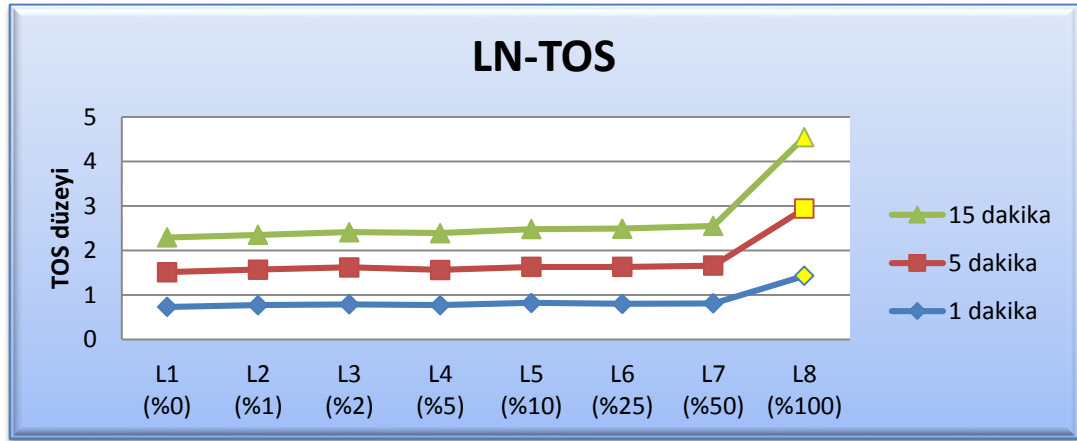
Şekil 26. BHCl ile muamele edilen kültürlerdeki doza bağlı TOS seviyesi

LN ile 1, 5, 15 dakikalık muamele edilen hücre kültürlerinde TOS seviyesi doza bağlı olarak Listerine'nin %100'lük konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı artışı

izlendi ($p < 0.05$). LN ile muamele edilen kültürlerde zamana bağlı olarak istatistiksel anlamlı bir farklılık görülmedi ($p > 0.005$) (Tablo 10).

Tablo 50. LN ile muamele edilen kültürlerde TOS seviyelerinin süreye bağlı olarak değerlendirilmesi

Konsantrasyonlar	1 dakika	5 dakika	15 dakika
L1 (0 mg/l-%0)	0.73 ± 0.202	0.78 ± 0.109	0.78 ± 0.218
L2 (2,5mg/l-%1)	0.77 ± 0.096	0.80 ± 0.157	0.78 ± 0.109
L3 (5mg/l-%2)	0.79 ± 0.235	0.83 ± 0.118	0.79 ± 0.148
L4 (12.5 mg/l-%5)	0.77 ± 0.107	0.79 ± 0.235	0.83 ± 0.104
L5 (25mg/l-%10)	0.82 ± 0.117	0.81 ± 0.214	0.85 ± 0.108
L6 (62.5 mg /l-%25)	0.80 ± 0.161	0.83 ± 0.148	0.86 ± 0.129
L7 (125 mg/l-%50)	0.81 ± 0.213	0.85 ± 0.131	0.89 ± 0.404
L8 (250 mg/l-%100)	1.43 ± 0.061	1.51 ± 0.154	1.60 ± 0.222



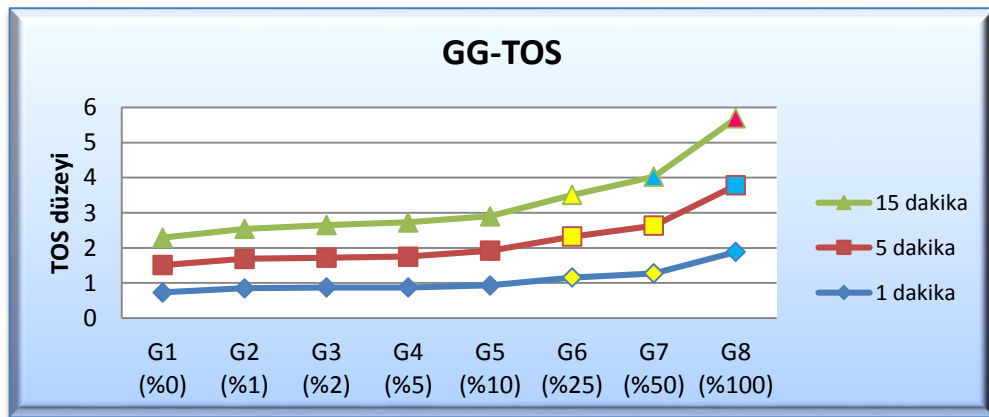
Şekil 27. LN ile muamele edilen hücre kültürlerindeki TOS seviyesinin doza bağlı değişimi

GG ile 1 dakikalık muamele edilen kültürlerde %25'lik GG konsantrasyonundan itibaren doza bağlı istatistiksel olarak bir artış görüldü ($p<0.05$). 5 ve 15 dakikalık uygulamada ise %25'lik konsantrasyondan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p<0.05$). GG ile muamele edilen kültürlerde zamana bağlı olarak %50'lik GG konsantrasyonunda 1 dakika muamele edilen diğer zamanlara göre istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.05$) (Tablo 11)

Tablo 11. GG ile muamele edilen kültürlerde TOS seviyelerinin süreye bağlı olarak değerlendirilmesi

Konsantrasyonlar	1 dakika	5 dakika	15 dakika
G1(0 mg/l-%0)	0.73 ± 0.202	0.78 ± 0.092	0.78 ± 0.092
G2(2,5mg/l-%1)	0.85 ± 0.095	0.84 ± 0.125	0.85 ± 0.108
G3(5mg/l-%2)	0.87 ± 0.136	0.85 ± 0.107	0.93 ± 0.086
G4(12.5 mg/l-%5)	0.87 ± 0.068	0.88 ± 0.314	0.98 ± 0.158
G5(25mg/l-%10)	0.93 ± 0.866	0.99 ± 0.137	0.98 ± 0.117
G6(62.5 mg /l-%25)	1.15 ± 0.148	1.17 ± 0.032	1.19 ± 0.048
G7(125 mg/l-%50)	1.27 ± 0.077*	1.36 ± 0.06	1.40 ± 0.059
G8(250 mg/l-%100)	1.88 ± 0.063	1.90 ± 0.051	1.91 ± 0.066

* $p<0.05$ aynı satırdaki veriler arasındaki istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

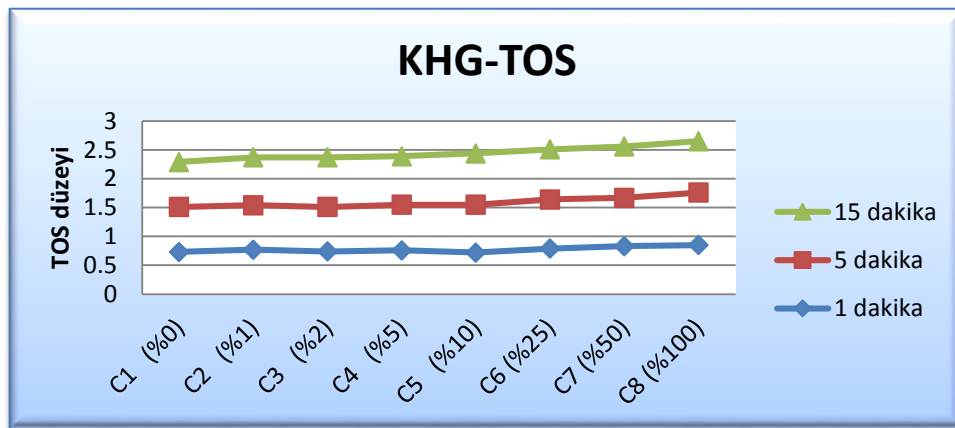


Şekil 28. GG ile muamele edilen kültürlerin doza bağlı TOS düzeyi değişimi

KHG ile 1, 5 ve 15 dakika muamele edilen kültürlerde KHG'nın tüm konsantrasyonlarının TOS seviyelerini doza bağlı istatistiksel olarak değiştirmedığı görülmüştür ($p>0.05$). KHG'nın kültürlerle zamana bağlı istatistiksel olarak etki etmediği izlendi ($p>0.05$)(Tablo 12).

Tablo 12. KHG ile muamele edilen kültürlerde TOS seviyelerinin süreye bağlı olarak değerlendirilmesi

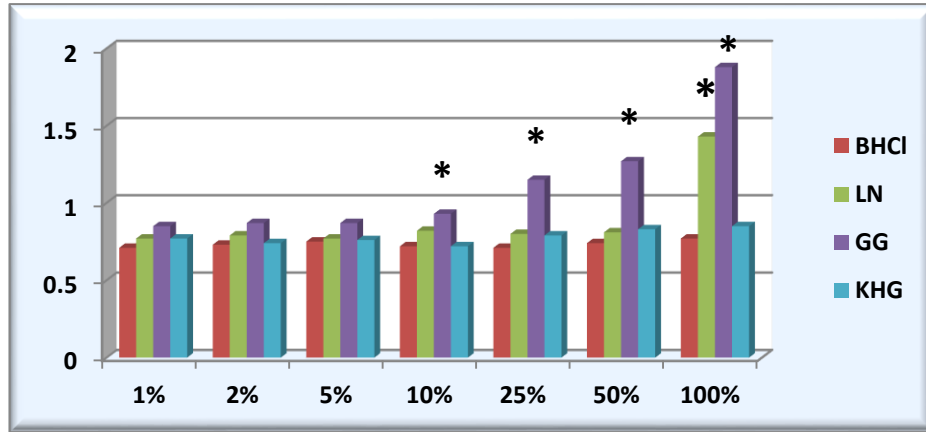
Konsantrasyonlar	1 dakika	5 dakika	15 dakika
C1(0 mg/l-%0)	0.73 $\pm$ 0.18	0.78 $\pm$ 0.102	0.78 $\pm$ 0.086
C2(2,5mg/l-%1)	0.77 $\pm$ 0.088	0.77 $\pm$ 0.077	0.83 $\pm$ 0.095
C3(5mg/l-%2)	0.74 $\pm$ 0.075	0.77 $\pm$ 0.115	0.86 $\pm$ 0.098
C4(12.5 mg/l-%5)	0.76 $\pm$ 0.085	0.79 $\pm$ 0.221	0.84 $\pm$ 0.084
C5(25mg/l-%10)	0.72 $\pm$ 0.08	0.83 $\pm$ 0.113	0.89 $\pm$ 0.067
C6(62.5 mg /l-%25)	0.79 $\pm$ 0.084	0.85 $\pm$ 0.114	0.87 $\pm$ 0.187
C7(125 mg/l-%50)	0.83 $\pm$ 0.107	0.84 $\pm$ 0.138	0.89 $\pm$ 0.147
C8(250 mg/l-%100)	0.85 $\pm$ 0.123	0.91 $\pm$ 0.14	0.89 $\pm$ 0.157



Şekil 29. KHG uygulanan kültürlerdeki TOS seviyesinin doza bağlı değişimi

6.3.3. Ağız çalkalama solüsyonlarının kültürlerde TOS seviyeleri üzerine olan etkilerinin Kıyaslanması

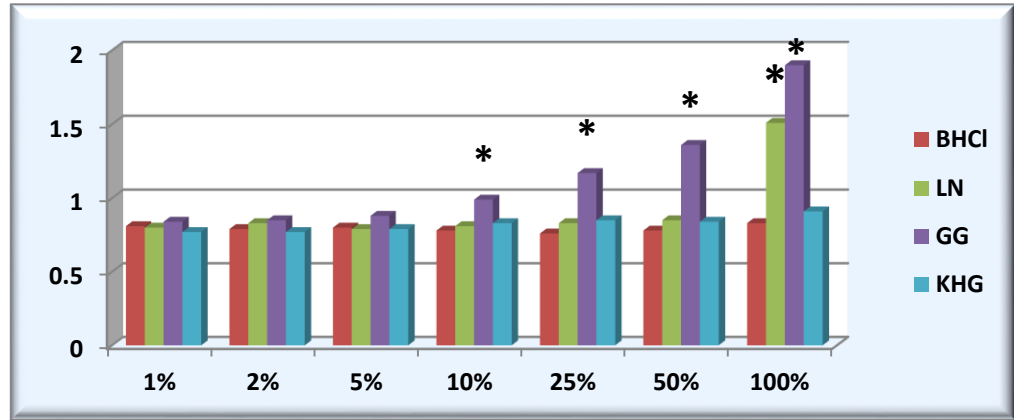
Farklı ağız çalkalama solüsyonlar ile farklı zamanlarda muamele edilen kültürlerde gargaralarının hücrelerin TOS üzerine etkileri incelendiğinde; 1 dakika farklı gargaralara ile muamele edilen kültürlerdeki %10, %25, %50 konsantrasyonlarda GG ile muamele edilen kültürde TOS seviyesi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenirken ($p<0.05$); %100'lük konsantrasyonda LN ve GG ile muamele edilen kültürlerde TOS seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu görüldü ($p<0.05$) (Şekil 30).



* $p<0.05$ veriler arasındaki istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

Şekil 30. BHCl, LN, GG, KHG ile 1 dakika muamele edilen kültürlerdeki İGF doza göre TOS seviyeleri değerlendirilmesi

5 dakika farklı gargaralara ile muamele edilen kültürlerdeki %10, %25, %50 konsantrasyonlarda GG ile muamele edilen kültürde TOS seviyesi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenirken ($p<0.05$); %100'lük konsantrasyonda LN ve GG ile muamele edilen kültürlerde TOS seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu görüldü ($p<0.05$) (Şekil 31).



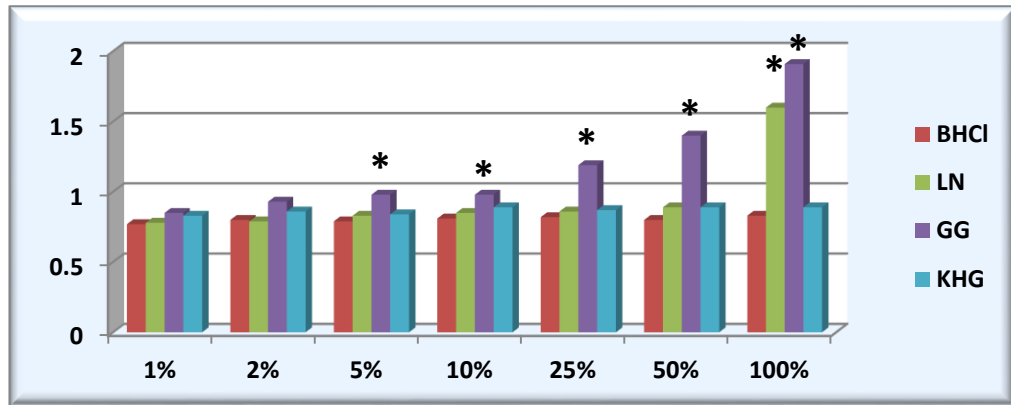
* $p < 0.05$ veriler arasındaki istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

Şekil 31. BHCl, LN, GG, KHG ile 5 dakika muamele edilen

kültürlerdeki İGF' nda doza göre TOS seviyeleri

değerlendirilmesi

15 dakika farklı gargaralara ile muamele edilen kültürlerdeki %10, %25, %50 konsantrasyonlarda GG ile muamele edilen kültürde TOS seviyesi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenirken ($p < 0.05$); %100'lük konsantrasyonda LN ve GG ile muamele edilen kültürlerde TOS seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu görüldü ($p < 0.05$) (Şekil 32).



* $p < 0.05$ veriler arasındaki istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

Şekil 32. BHCl, LN, GG, KHG ile 15 dakika muamele edilen

kültürlerdeki İGF' nda doza göre TOS seviyeleri

değerlendirilmesi

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Antimikrobiyal ağız çalkalama solüsyonları gerek diş hekimliği gerekse tıp alanında ülkemizde oldukça sıklıkla reçete edilen ilaçlar grubundadır (127). Bu tip ajanlar mikrobiyal plağın kontrolü amacıyla oral hijyen uygulamaları arasında geniş bir yer almaktadır. Periododontal tedavi sürecinde mekanik plak kontrolünün yanı sıra oral antimikrobiyal ajanlar ile uygulanan lokal kimyasal plak kontrolü her ne kadar tedavinin başarısı açısından önemli olsa da, bu ajanların bilinçsiz kullanımlarının çeşitli yan etkilere sebep olabileceği daha önce pek çok çalışmada bildirilmiştir (8, 32, 45, 47, 128-131). Antimikrobiyal ağız gargaralarının oral ve gingival dokular üzerindeki etkileri daha önce pek çok araştırmacının çalışma konusu olmuştur. Günümüze kadar ağız gargaraları üzerine birçok in vivo ve in vitro, deneysel hayvan, klinik insan ve hücre kültürü çalışmaları mevcuttur (9, 45, 68, 71, 132-135). Literatür taramalarında ağız gargaralarının hücre ve dokular üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesinde daha çok hücre kültürlerinin kullanıldığı görülmektedir.

İnsan üzerinde yapılan klinik araştırmalarda vücut metabolizması, immün sistemi ve buna bağlı olarak vücut ilaç metabolizması gibi bireysel farklılıklar ile oluşabilecek doku cevabındaki değişiklikler çalışma sonuçlarında bazı çelişkilerin meydana gelmesine neden olmaktadır (136-139). Bu durum birçok araştırmacıyı in vitro hücre kültürü çalışmalarına sevk etmiştir. Literatür çalışmalarında hücre kültürü ile ilgili çalışmaları, pek çok saha da hayvan çalışmalarının yerine kullanılmakta ve hayvan deneylerini geçersiz hale getirmektedir. Misal verilecek olursa İngiltere'de bir yılda 2,5 milyon hayvan çalışmada kullanılırken; ABD'de ise bir yıl süresince deneyler nedenli öldürülen hayvanların sayısı 18-22 milyon civarında değişmekle beraber, bu çalışmaların 554.000 tavşan ve 180.000 köpek, 61.000 maymun, 50.000 kediye içerdiği bilinmektedir (80). Hücre kültürü çalışmalarının en büyük avantajlarından biri canlı bir organizma üzerinde yapılmadığı için hayvanların sakrifiye etmeye gerek duyulmamasıdır. Direkt hayvan deneyi yapmak yerine, hâlihazırda daha çok ilerlemeler kaydeden moleküler biyolojik yöntemler ile tasarlanmış hücre kültürü çalışmalarından varılan sonuçlara göre sadece gerekli durumlarda hayvan deneyi yaparak hem pek çok sayıda hayvanın öldürülmesi önlenmiş olmakta hem de uygun bir çalışma ortamının hazırlanıp, sadece denenen maddeye ya da metoda hücrenin tepkisinin ölçülebilmesi

gibi çok önemli bir avantaj temin edilmektedir (14, 80, 140). Bunun yanında hücre kültürü test metotlarının takip edilebilme imkânları daha fazladır, daha kolaydır ve tekrarlanabilme özellikleri vardır. Sonuçlar daha kısa zamanda elde edilebilmektedir. Hücrelere yönelik etki direk gözlemlenir. Kimyasal materyallerin etkileri her tür hücre veyahut dokularda tek tek çalışılabilir. İstatistiksel olarak hayvan çalışmalarıyla kantitasyon yapılabilecek miktarda hücrede işlem yapılabilir. Vücuttaki karşılıklı etkileşmeler sebebiyle denenmeyen veya bu gibi soru işareti içerecek bulgular ve araştırmalar hücre kültürlerinde daha sağlam şekilde tamamlanabilir (141). Bu nedenle yapılan literatür taramaları ışığı altında, çalışmamızda inceleyeceğimiz materyallerin insan üzerindeki muhtemel etkilerinin araştırılması amacıyla hücre kültürü kullanılmasına karar verildi.

Periodontolojide pek çok hücre kültürü çalışması yapılmasına rağmen; gingival fibroblastlar üzerine daha fazla çalışma yapıldığı görülmektedir. Fibroblastlar, periyodonsiyumun yumuşak bağ dokularında baskın hücre tipi olup, bu hücrelerdeki patolojik değişiklikler periodontal dokularda meydana gelecek değişikliklerde merkezi bir rol oynar (57). Gingival fibroblastlar, periodontal bağ dokusunun yapımı ve idamesinde önemli rol alıp, periodontal hastalık seyrinde ekstrasellüler matriksi yıkmakla ve proenflamatuar sitokinleri salgılamakla vazifelidirler (142). Bu hücreler, immün cevapta aktif oldukları gibi çeşitli interferon gamma (IFN- γ), prostaglandin-E2 (PGE2), interleukin -1 (IL-1), IL-6 ve IL-8 gibi enflamatuar mediatörler de salgırlar. Bu fibroblast türevli mediatörlerin periodontal enflamatuar cevapta önemli bir rolü olduğuna inanılmaktadır (143).

Periodontolojide ve başka bilim dallarında birçok araştırmacı günümüzde hücre kültürü yöntemini biomateryallerin ve ilaç etken maddelerinin test edilmesinde kullanmıştır (144-149). Bizde bu nedenlerle araştırmamızı İGF hücre kültürü üzerinde yapmaya karar verdik. Çalışmamızda dört farklı içeriğe sahip gargaranın İGF üzerine olan etkisinin in vitro olarak değerlendirilmesi amaçlandı.

Periodontal hastalıkta aktive olan enflamasyonla beraber ROT üretimi kemik rezorbsiyonuna ve bağ dokusu yıkımına neden olmaktadır (150). Geleneksel olarak yangı hücreleri tarafından üretilen ROT mikropların etkin öldürülebilmesi için vücut savunma mekanizmasının bir parçası olarak görev yapar. Buna karşın yüksek

seviyelerde ROT üretimi dokularda oksidatif strese neden olabilir, ekstraselüler matriks ve hücrelerde direkt zarar ile sonuçlanabilmektedir (95, 151). Enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar SR'nin zararlı etkilerini yok ederek, hücresel yapıyı ve doku bütünlüğünü korurlar. SR'nin düzeyleri ve antioksidan düzeyleri arasında dengesizlikler enflamatuvar ağız hastalıklarının başlangıcı ve gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (17, 18, 152). ROT'un biyomarkırlarının ana kaynakları lipid peroksidasyonu, protein/amino grup asit oksidasyonu, karbonhidrat hasarı ve DNA hasarıdır (151).

TAS; bütün antioksidanların antioksidan kapasitelerinin toplamı ile elde edilen biyokimyasal bir parametre olup birçok periodontitis çalışmasında seviyeleri doku hasarının biyomarkırı olarak araştırılmıştır. Chapple ve ark. hasta ve kontrol gruplarının serum ve tükürük örneklerinde TAS seviyelerinin ölçümünde hastalıklı grupların TAS seviyelerinin düştüğünü belirlemişlerdir (153). Ayrıca TAS'ın ölçülmesinin güvenilir bir metot olduğu ve daha keşfedilmemiş antioksidan çeşitlerinin etkilerini de yansıttığı öne sürmüşlerdir (112). Bir diğer taraftan Moore ve ark. Trolox eşdeğer testi kullanılarak periodontal hastalıklı ve sağlıklı bireylerde tükürük antioksidan kapasitesi ölçtükleri çalışmalarında gruplar arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır (154). Son yıllarda, bozulmuş tükürük antioksidan ve artmış oksidatif hasar ile gingivitis ve periodontitisin olası ilişkisi Sculley ve Langley-Evans tarafından da araştırılmıştır. Bu araştırmacılar periodontal hastalığın oral kavitede oksidatif hasarın artması ve azaltılmış tükürük antioksidan kapasite ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (155). Baltacıoğlu ve ark. 'nın serum ve dişeti oluğu sıvısında TAS düzeylerini pre ve post menapozal periodontitis hastalarında araştırdıkları çalışmalarında, kronik periodontitiste dişeti oluğu sıvısı ve serum TAS seviyelerinin istatistiksel anlamli derecede azaldığını ifade etmişlerdir (156). Çanakçı ve ark. preekleptik ve periodontitisli hastalarda yaptıkları serum, tükürük ve dişeti oluğu sıvısında TAS seviyelerini inceledikleri çalışmalarında, preekleptik durumun periodontal hastalığa eklenmesi ile TAS seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığını göstermişlerdir (157).

Ayrıca farklı oksidan moleküllerin ayrı ayrı ölçümü pratik bir yöntem olmadığı ve oksidan moleküllerin birbiriyle etkileşimini tam olarak göstermeyebileceği gibi nedenler ile TOS tespitinin, diğer metotlara nazaran daha üstün bir metot olduğu öne sürülmüştür (108). Çalışmamızda farklı gargaraların İGF hücreleri üzerindeki

antioksidan kapasite ve oksidan durum üzerine etkilerin değerlendirilmesi amaçlandığı için TAS ve TOS düzeyleri ölçüldü.

Günümüzde ağız çalkalama solüsyonlarının toksik etkilerinin değerlendirilmesinde mikronükleus (MN) testi, single cell gel electrophoresis (SGCE), Methyltetrazolium (MTT), XTT (2,3-Bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5carboxanilide), Nötral Red, Laktat dehidrogenaz (LDH), Süksinik dehidrogenaz (SDH) seviyesi ölçümü gibi tekniklerin kullanıldığı görülmektedir. Çalışmamızda gargaraların İGF kültürleri üzerine olan sitotoksik etkilerin değerlendirilmesinde hücre zarının bütünlüğünün bozulmasının bir göstergesi olan LDH seviyesi ölçümü kullanıldı.

KHG ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda KHG'nin İGF'de in vitro sitotoksik etkilere sahip olduğu kanıtlanmıştır (6, 57, 128, 158-160). Gianelli ve ark. in vitro KHG'nin kaydadeğer biçimde sitotoksik olduğunu ve cerrahi işlemlerde dikkatli kullanılması gerektiğini tavsiye etmişlerdir. Ticari olarak tavsiye edilen dozda (0.12%) ve hatta % 0,00009'a kadar seyreltilmiş konsantrasyonda KHG'nin gingival fibroblastlar üzerinde cerrahi alanlarda kısa süreli kullanımında bile yara iyileşmesini önemli ölçüde olumsuz etkilediği vurgulanmıştır (6). Ayrıca Mariotti ve ark.'ları KHG'nin doza bağlı hücresel proliferasyonu azaltacağını ileri sürerek yaptıkları çalışmada, ancak dozun hücre proliferasyonu üzerindeki etkilerinden çok kollajen ve kollajen olmayan protein üretimini anlamlı derecede azalttığını belirtmişlerdir (158). Yine yapılan diğer çalışmalarda KHG'nin doza bağlı toksisitenin anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir (57, 131, 160, 161). Dozun toksisite üzerine olan etkilerini incelediğimizde, çalışmamızda KHG'ye 1 dakika süreyle maruz kalan kültürlerde doza bağlı bir toksik etki görülmezken, 5 dakika ve 15 dakika sürelerle KHG'ye maruz bırakılan kültürlerde toksisitenin doza bağlı arttığı izlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları KHG'nin doza bağlı toksik etkisinin arttığını gösteren çalışmaları desteklemektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda KHG'nin hücre kültürlerinde doza bağlı toksik etkisinin artmasının yanı sıra kültürlerin KHG'ye maruz kalma süresinin de toksisite üzerinde etkili olduğu rapor edilmiştir (129, 160). Ancak Mariotti ve ark. yaptığı çalışmada İGF'nin hücresel proliferasyonunun KHG'ye maruz kalmaktan etkilenmediğini ileri

sürmüşlerdir (158). Bulgularımıza baktığımızda, KHG ile muamele edilen gingival fibroblastlarda zamana bağlı olarak sitotoksik etki izlendi.

Yapılan literatür taramalarında KHG'nin çeşitli hücre kültürlerinde oldukça sitotoksik etkilere sahip olmasına rağmen, sitotoksik etkileri altında yatan mekanizmanın henüz tam olarak anlaşılamadığı rapor edilmektedir (130, 158). Pucher ve ark. , Goldschmidt ve ark. KHG'nin düşük konsantrasyonlarda bile fibroblastlarda ve epitelyal hücrelerde protein ve DNA sentezini inhibe ettiğini belirtilmişlerdir (132, 162). Yine yapılan çeşitli çalışmalarda KHG'nin mitokondriyal membran potansiyelini bozarak hücrelerde apoptotik ve nekrotik hücre ölümlerine neden olduğunu bildirmiştir (6, 163). Browne ve ark. %0,01'lik KHG'nin İGF'de belirgin hücre ölümlerine neden olduğunu ve %0,004'luk KHG'ye 10 dk maruz kalan İGF'de protein sentezinin geciktiğini gözlemlemişlerdir (81). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, KHG'nin fibroblastların kök yüzeylerine bağlanmasını bozduğu ve hücre çoğalmasını engellediği (130) ve hücrelerde in vitro olarak toplam protein üretimini etkilediği gösterilmiştir (57, 162). Gianelli ve ark. KHG'nin hücre içi Ca^{+2} iyon artışını tetiklediğini ve ROT üretimine neden olduğunu rapor etmelerine rağmen (6), çalışmamızda KHG'nin gingival fibroblast kültürlerinde total antioksidan enzim seviyeleri ve total oksidatif durum üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı izlenmiştir. Yine çalışmamız bu bulgular yönüyle KHG'nin antioksidan enzim kapasitesinin olmadığını rapor eden Battino ve ark. nin bulguları ile de çelişmemektedir (1). Hücre kültürlerinde KHG'nin doza ve zamana bağlı meydana getirdiği toksik etkilerin yukarıda belirtilen diğer mekanizmalar üzerinden yürümüş olabileceğini ve antioksidanlar üzerine KHG'nin etkileri ile ilgili ileriye yönelik yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Literatürde LN ile ilgili de pek çok çalışma olmasına rağmen (48, 133, 164-169) hücre kültürü çalışmaları klinik çalışmalara nazaran daha az olduğu görüldü (8, 57, 128). Tsourounakis ve ark. ile Flemingson ve ark LN'nin gingival fibroblast hücre kültürlerinde toksik etki göstererek doza bağlı hücre ölümüne neden olduğunu belirtmişlerdir (57, 128). Bizim çalışmamızda da LN'nin gingival fibroblast hücre kültürlerinde doza ve uygulama süresine bağlı hücre ölümüne neden olduğu izlenmiştir.

LN içerdiği aktif maddelerden timol (% 0,064) ve etanolün (%21,6) (170, 171) hücre kültürleri üzerinde toksik etkileri daha önceki çalışmalarda izlenmişken, ökaliptol

(% 0,092) (172), metil salisilat (% 0,060) (1), mentolün (%0.042) genotoksik etkilerinin olmadığı rapor edilmiştir. Hatta Battino ve ark. LN'nin içerdiği metil salisilat aracılığı ile antioksidan etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir (1). Ancak çalışmamızda LN'nin düşük konsantrasyonlarında TAS üzerine herhangi bir anlamlı etkisi izlenmezken, %25'lik konsantrasyondan sonra bütün uygulama sürelerinde kültürlerdeki antioksidan kapasiteyi doza bağlı olarak anlamlı derecede düşürdüğü izlendi. Önceki çalışmalarla çelişen bu bulgu LN'nin düşük dozlarının yararlı antioksidan etkiye sahip olabileceğini, yüksek dozlarda hücrelerin antioksidan kapasitelerini olumsuz yönde etkileyebileceğini düşündürmektedir. Yine LN ile muamale edilen kültürlerde TOS seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da doza bağlı bir artış olduğu görülmüştür. TOS seviyesindeki artışın anlamlı olmayışı, LN içeriğindeki antioksidan etkiye sahip metil salisilatın ortamdaki ROT'ları nötralize etmesi ile ilişkili olabilir.

BHCl birçok klinik çalışmada araştırılmış olmasına rağmen sitotoksitesi ile ilgili pek fazla çalışma bulunmamaktadır. Wilken ve ark. in vitro çalışmalarında %0.15'lik BHCl uygulamasının İGF hücreleri üzerine sitotoksik olduğunu ve BHCl'e muamelesiyle fibroblastların metabolik aktivitelerinin durduğunu rapor etmişlerdir. (159). Erdemir ve ark. çalışmalarında BHCl'nin insan gingival epitelyal hücreler üzerine zamana bağlı sitotoksik etkiye sahip olduğunu gösterilmişlerdir (127). Erciyas ve ark. yaptığı çalışmada KHG ve BHCl *Drosophila melanogaster* üzerine toksik ve genotoksik etkilerinin olduğunu göstermişlerdir (21). Erdemir ve ark. yaptığı çalışmada BHCl uygulamasından önce ve bir hafta sonra alınan gingival epitelyal hücrelerde yapılan MN testleri sonucunda genotoksite değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlenmiştir (127). Özkan'ın yaptığı çalışmada 10^{-6} ve 10^{-5} molar konsantrasyonlarda BHCl uygulamasının 72 saat süreli inkübasyonunun osteoblastlar üzerine sitotoksik olduğunu aynı zamanda 10^{-4} konsantrasyonun ise osteoblast hücreleri üzerine sitotoksitesinin çok yüksek olduğunu MTT analizi ile göstermiştir. Ayrıca aynı konsantrasyonlarda BHCl'nin osteoblast hücrelerinde proliferasyonu baskıladığı XTT analizi ile belirlenmiştir (14). Literatürde BHCl'nin İGF hücreleri üzerindeki toksik etkilerinin doza ve hücrelerin bu ajana maruz kalma süreleriyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada BHCl'nin bütün konsantrasyonlarda zamana bağlı toksik etkilere neden olduğu izlenirken, hücrelerin bu

ajana 5 dakika ve 15 dakikalık sürelerde maruz kalmaları durumunda da doza bağılı olarak anlamlı derecede toksik etkilere sebebiyet verdiği izlenmiştir.

Yapılan literatür taramalarında BHCl'nin enflamatuvar sitokin seviyelerini etkileyerek hücresel düzeyde sinyal mekanizmalarını bozduğu belirtilse de (173-175) BHCl'nin toksisite mekanizması üzerine literatürde henüz yeterli veri bulunmamaktadır. Ayrıca, BHCl'nin antioksidan enzim seviyeleri üzerindeki etkileriyle ilgili de herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızdan elde edilen verileri incelediğimizde, BHCl'nin kültürlerde antioksidan kapasite üzerine istatistiksel olarak anlamlı derecede bir etkisi izlenmezken, TOS üzerinde de kaydadeğer bir etkisi görülmemiştir. Yani BHCl'nin toksik etkisinin antioksidan mekanizma üzerinden yürümediğini söyleyebiliriz.

Yüksek molekül ağırlıklı HA içerikli bir gargara olan GG ile ilgili yaptığımız literatür taramalarında Mesa ve ark. bu ajanın hücrelerin proliferasyonunu azalttığını belirtirken (176), diğer çalışmalar yüksek molekül ağırlıklı HA'nın hücreler üzerinde herhangi bir toksik etkiye sahip olmadığını (177, 178) ve hatta yara iyileşmesi üzerine anlamlı pozitif etkilere sahip olduğunu (71, 75, 135, 179) ileri sürmektedir. Dahası, Bogovic ve ark. bir hemotositometre ile fibroblastların ve odontoblastların canlılığını değerlendirdikleri çalışmada; HA'nın direkt pulpa kapatmada en etkili ve en az sitotoksik olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada HA ile tedavi edilen kültürlerde kontrol grubuna göre daha çok sayıda odontoblast ve fibroblast olduğu; HA ile muamele edilen kültürlerde daha az bir oranda apoptotik ve nekrotik hücre bulunduğu izlenmiştir (177). Çalışmamızda yüksek molekül ağırlıklı HA içerikli bir ajan olan GG'nin İGF kültürlerindeki toksik etkilerinin incelenmesinde düşük konsantrasyonlarda anlamlı bir sitotoksik etki izlenmezken, yüksek konsantrasyonlarda İGF kültürlerinde zamana bağlı sitotoksik etkilere sahip olduğu izlendi. Yine özellikle uzun süre GG'ye maruz kalan kültürlerde doza bağılı anlamlı derecede sitotoksik etki görüldü. Ke ve ark. düşük ve yüksek moleküler ağırlıklara sahip HA uygulaması yapılan immunsüprese edilmiş farelerde karaciğer dokusu ve kan serumu antioksidan enzimlerden olan Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), Katalaz (KAT) seviyelerinin HA uygulaması ile arttığı ve oksidan bir enzim olan Malondialdehid (MDA) seviyesinin ise azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca 60 mg/kg doz HA

uygulamasında TAS seviyesinin arttığı rapor edilmiştir (180). Bucak ve ark. koç spermelerine oksidatif koruyucu amaçla kattıkları 0.5 mg/ml ve 1 mg/ml dozlarındaki HA maddesinin oksidan (MDA) ve antioksidan (GSH, KAT ve GSH-Px) parametrelerde istatistiksel olarak önemli bir farklılık oluşturmazken, 0.5 mg/ml HA uygulamasının Vit-E konsantrasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (181). Balogh ve ark. çalışmalarında ROT aracılı HA yıkımının önlenmesi ve antioksidan kapasitenin belirlenebilmesi için çinko bağlı HA (Zn-HA), kobalt bağlı HA (Co-HA) ve mangan bağlı HA (Mn-HA) ile kompleks oluşturulmuş maddelerin metal iyonları aracılı SR oluşumunu önlediği ve antioksidan kapasitesini koruduğunu ifade etmiştir (182). Ancak çalışmamızda yüksek molekül ağırlıklı HA'nın kültürlerdeki antioksidan ve oksidan seviyeleri üzerine etkilerini incelediğimizde, GG'nin TAS seviyeleri üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı izlendi. Bununla birlikte, GG'nin kültürlerde %100'lük konsantrasyonda TOS seviyesini anlamlı derecede artırırken daha düşük konsantrasyonlarda herhangi bir etki oluşturmadağı izlendi.

Erdemir ve ark. KHG, BHCl üzerine yapmış oldukları çalışmalarında kontrol grubuna göre her iki grupta da uygulama sonrası MN değeri artarken; BHCl solüsyonunun sitotoksik etkisinin KHG'ye kıyasla daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (127). Yine Erciyas ve ark. KHG ve BHCl üzerine Drosophila Wing-spot testi ile yaptıkları çalışmada BHCl 'nin KHG'ye göre daha güvenilir olduğunu ifade etmişlerdir (21). BHCl ve KHG'nin toksik etkileri arasında yapılan kıyaslamalarda elde ettiğimiz bulgular bu çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Flemingson ve ark. KHG, LN kullanarak yapmış oldukları çalışmalarında İGF üzerine her iki solüsyonun da sitotoksik olduğunu MTT ile göstermişlerdir. Ayrıca KHG bu 2 gargara arasında en fazla toksik olduğu görülmesine rağmen; %1 ve %2'lik konsantrasyonlarda LN'in KHG'den daha sitotoksik olduğu ifade edilmiştir (57). Tsourounakis ve ark. LN ve KHG'nin İGF üzerine etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında aynı konsantrasyonlarda (%10 ve %15 konsantrasyonlarda) KHG'nin LN'e göre hücre migrasyonunu ve canlılığını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığını belirlemişlerdir. Ancak; LN'in KHG'ye göre daha kısa zamanda hücrelerde migrasyonu engellediği ve uzun sürelerde (uygulamadan yedi gün sonra) ise KHG'nin LN'ye göre daha çok sitotoksik etki göstererek İGF'lerin ölümüne yol açtığını rapor

etmişlerdir (128). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularımızda LN doza ve zamana bağlı olarak KHG'den daha sitotoksik olduğu görülmüştür.

Literatür taramalarında, GG ile diğer ağız çalkalama solüsyonlarının toksik etkilerini kıyaslayan herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Sadece yara iyileşmesine üzerine yapılan çalışmalarda Şahin ve ark. KHG-%1 jel ve HA-%0,8 jel'in ratlarda yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin değerlendirerek kullanılan diğer solüsyonlara ait yara çapı azalma oranları ile karşılaştırılma yapıldığında; HA-%0,8 jel, KHG-%1 jele göre yara çapında istatistiksel olarak daha fazla azalmaya sebep olduğunu ifade etmiştir (71). Hammad ve ark. KHG, GG yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; KHG ve GG arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır (75).

Çalışmamızda LDH analizlerinin değerlendirilmesinde, ağız çalkalama solüsyonlarının 1 dakikalık uygulamalarında en yüksek sitotoksik değerlerin GG için %10, 25, 50 ve 100'lük konsantrasyonlarda ve LN için ise %100'lük konsantrasyonda olduğu izlenmiştir. 5 dakika süreli uygulamaların sitotoksik analizinde en yüksek GG ve en düşük KHG' de olduğu belirlenirken; BHCl, LN ve GG 'in özellikle %25'lik konsantrasyondan sonra sitotoksik etkisinin oldukça arttığı gözlemlenmiştir. Ağız çalkalama solüsyonlarının sitotoksitesinin değerlendirilmesinde ise en yüksek toksik etkinin GG 'in %50 ve 100'lük, LN'in %10 ve üstü konsantrasyonlarında olduğu görülmektedir. En düşük sitotoksik etkinin ise BHCl 'de olduğu tespit edilmiştir.

Literatür taramalarında ağız çalkalama solüsyonlarının antioksidan kapasite ve oksidatif durum yönüyle değerlendiren ayrıntılı çalışma bulunmamaktadır. Bu duruma karşın Battino ve ark. çalışmalarında LN ve KHG'in herhangi bir antioksidan özelliğinin olmadığını fakat, LN'in içerdiği metil salisilatın güçlü bir antioksidan olduğundan dolayı antioksidan özelliğinin olabileceğini, içeriği KHG olan bazı ticari solüsyonların ise zayıf antioksidan özelliği gösterdikleri ve bu ticari solüsyonların bileşiminde bulunan diğer maddelere bağlı olarak bu özelliği gösterebileceği öne sürülmüştür (1). Bizim çalışmamızda ise LN KHG'ye oranla daha fazla antioksidan kapasiteyi düşürdüğü bulunmuştur.

Ayrıca yine çalışmamızın TAS analizlerinin sonucunda İGF hücreleri üzerine 1, 5 ve 15 dakika süreli gargara ile muamelelerde bu solüsyonlardan LN uygulamasının diğerlerine göre daha fazla ve anlamlı oranda antioksidan seviyeyi düşürdüğü görülürken diğer gargaraların tüm zamanlarda ve konsantrasyonlarda antioksidan seviyesi üzerinde anlamlı bir etki oluşturmadığı görülmüştür. Ayrıca TOS düzeylerinin değerlendirilmesinde ise oksidan seviyesindeki anlamlı artışın GG'in %10, 25, 50 ve 100'lük konsantrasyonlarında ve LN'in %100'lük konsantrasyonunda 1, 5 ve 15 dakika süreli uygulamalarında olduğu tespit edilmiştir. En düşük TOS seviyesinin ise BHCl uygulaması yapılan gruplarda olduğu belirlendi.

Sonuç olarak BHCl, KHG, LN ve GG halen günümüzde sıklıkla kullanılan en etkili ağız çalkalama solüsyonlarıdır. Özellikle antibakteriyel etkisinden dolayı gerek plak önleyici ajan olarak gerekse çeşitli periodontal tedavilerden sonra ya da periodontal tedaviler esnasında irrigasyon amacıyla oldukça geniş bir kullanım alanı bulmaktadır. Bu nedenle oral olarak kullanımında yol açabileceği sitotoksik ve antioksidan etkilerinin moleküler düzeyde araştırılacağı daha detaylı çalışmalar ile güvenilirliği destekleninceye kadar uzun süreli kullanımlardan kaçınılmalıdır.

Bu tez çalışmasının sonuçlarına göre;

1. İGF hücre kültürlerine uygulanan bütün gargaralar 1, 5 ve 15 dakikalık uygulama zamanlara ve uygulanan konsantrasyona bağlı olarak kontrol gruplarına göre sitotoksik oldukları yani LDH seviyesini arttırdıkları görülmüştür.
2. Ağız çalkalama solüsyonları ile 1, 5 ve 15 dakika muamelede İGF hücreleri üzerine özellikle GG ve LN'nin istatistiksel olarak anlamlı bir sitotoksik etki gösterdiği görülmüştür.
3. Ağız çalkalama solüsyonları ile 1 dakikalık uygulamanın BHCl ve KHG grupları arasında istatistiksel bir farkın olmadığı görülürken, 5 dakikalık uygulamanın ise

istatistiksel olarak anlamlı ve en az sitotoksik etkili olanın KHG olduğu ve 15 dakikada ise en az sitotoksik etkinin BHCl uygulanan gruplarda olduğu görüldü.

4. İGF hücre kültürlerine uygulanan LN'in tüm konsantrasyonlarda ve tüm uygulama zamanlarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde TAS seviyesini düşürdüğü gözlenmiştir.
5. KHG, GG ve BHCl'nin TAS seviyelerine etkilerini incelediğimizde; tüm konsantrasyonlarda ve tüm zamanlarda istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmadığı görülmüştür.
6. GG ve BHCl uygulamalarında ise istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber, doza bağı olarak TAS seviyelerini arttırdığı görülmüştür.
7. İGF hücre kültürlerine muamele edilen LN ve GG istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde TOS seviyesini doz bağımlı olarak arttırırken; BHCl ve KHG istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber TOS seviyesini doza bağı olarak hafifçe arttırdığı görülmüştür.
8. 1, 5 ve 15 dakika süreli İGF'lere uygulama sonrası TOS düzeyini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttıran gargalar sırasıyla GG ve LN'dir.
9. 1, 5 dakika İGF'lere uygulanan gargalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir TOS düzeyi artışı % 10 'luk konsantrasyon ve üstü konsantrasyonlarda izlenmiştir.
10. İGF'lere 15 dakika süreyle uygulanan ağız çalkalama solüsyonlarının ancak %5 ve daha üstü konsantrasyonlarının TOS seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışa sebep olduğu belirlenmiştir.

Özetle, bu çalışmada periodontal tedaviye ek tedavi ve oral hijyen kontrolüne yardımcı olarak uygulanan, günümüz ilaç piyasasında en çok yer alan ağız çalkalama solüsyonlarından BHCl, GG, LN ve KHG'nin İGF hücreleri üzerine sitotoksik etkileri

olduğu belirlendi. Periodontal doku hücrelerinden biri olan İGF hücreleri üzerinde oluşan etkileri nedeniyle periodontal sağlığın korunması için bu ağız çalkalama solüsyonlarının daha dikkatli kullanılması gerektiği kanaatine vardık.

Ayrıca dikkate alınması gereken bir noktada şu dur ki; bizim çalışmamızda gargaralar direk İGF hücre kültürlerine uygulandığı için; her ne kadar daha önceki literatürlerin ışığında doz ayarlaması yapılarak bir çalışma metodu izlense de; in vitro ortamda hasta üzerinde taklit edilemeyecek ve tahmin edilemeyecek birçok faktör (ilacın dokudaki konsantrasyonu, ilacın dokuda nasıl bir cevaba sebep olabileceği, konak doku cevabının nasıl olacağı vb.) olduğu göz ardı edilmemelidir.

Bu duruma karşın hücre kültürüne uyguladığımız gargaraların İGF hücreleri üzerindeki etkisi bu metot ile doğrudan tahlil edilebilmekte ve bize bu etkilerinin periodontal tedavi ve sağlık konusunda nasıl bir yöntem izlenmesi gerektiği hususunda yardımcı olmaktadır. Ayrıca bu ağız çalkalama solüsyonlarının sitotoksik, antioksidan ve oksidan durum hakkında yeterli çalışma olmaması nedeniyle ilerde etki mekanizmasının açığa kavuşturulması adına daha çok in vivo koşullarda oluşabilecek gerçek etkilerin değeriendirilebilmesi için hayvan çalışmaları ve klinik deneyler ile de literatürün desteklenmesi gerektiği kanısındayız.

8. KAYNAKLAR

1. Battino M, Ferreiro MS, Fattorini D and P. B (2002). In vitro antioxidant activities of mouthrinses and their components. *J Clin Periodontol* 29: 462–467.
2. Takane M, Sugano N, Ezawa T, Uchiyama T and Ito K (2005). A marker of oxidative stress in saliva: association with periodontally-involved teeth of a hopeless prognosis. *J Oral Sci* 47(1): 53-57.
3. Kocher T, Sawaf H, Warncke M and Welk A (2000). Resolution of interdental inflammation with 2 different modes of plaque control. *J Clin Periodontol* 27(12): 883-888.
4. Overholser CD, Meiller TF, DePaola LG, Minah GE and Niehaus C (1990). Comparative effects of 2 chemotherapeutic mouthrinses on the development of supragingival dental plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol* 17(8): 575-579.
5. Marsh PD (1992). Microbiological aspects of the chemical control of plaque and gingivitis. *J Dent Res* 71(7): 1431-1438.
6. Giannelli M, Chellini F, Margheri M, Tonelli P and Tani A (2008). Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: a molecular and ultrastructural investigation. *Toxicol In Vitro* 22(2): 308-317.
7. R W ((1991)). Milder Listerine announced following cancer report. *The Wall Street Journal* B1.
8. Turkez H, Togar B and Arabaci T (2012). Evaluation of genotoxicity after application of Listerine(R) on human lymphocytes by micronucleus and single cell gel electrophoresis assays. *Toxicol Ind Health* 28(3): 271-275.
9. AL-Bayat F, Taiyeb-ali T, Abdulla MA and F H (2010). Antibacterial effect of chlorine dioxide and hyaluronate on dental biofilm. *Afr. J. Microbiol. Res.* 4(14): 1525-1531.
10. Pagnacco A, Vangelist R, Erra C and A P (1997). Double-blind clinical trial vs. placebo of new sodium hyaluronate-based gingival gel. *Translation of Atlantica Terapeutica Internaziale* 4(1-12).
11. Jenstch H, Pornowski R, Kundi G and R G (2003). Treatment of gingivitis with hyaluronan. *J. Clin. Periodontol.* 30: 159-164.

12. Pirnazar P, Wolinsky L, Nachnani S, Haake S, Pilloni A and Bernard GW (1999). Bacteriostatic effects of hyaluronic acid. *J Periodontol* 70(4): 370-374.
13. Runti C and Baiocchi L (1985). The chemistry of benzydamine. *Int J Tissue React* 7(3): 175-186.
14. Ozkan EA (2008). Ağrı Kontrolünde Kullanılan Benzidamin Hcl'ün Osteoblast Hücreleri Üzerindeki Etkilerinin Hücre Kültürü Çalışmaları İle Değerlendirilmesi. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü Ortodonti Doktora Programı Doktora Tezi: 62.
15. Page RC and Kornman KS (1997). The pathogenesis of human periodontitis: An introduction. *Periodontology* 2000 14: 9-11.
16. Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB and Chapple IL (2004). Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol* 31(7): 515-521.
17. Battino M, Bullon P, Wilson M and Newman H (1999). Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: The challenge of antioxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 10(4): 458-476.
18. Chapple ILC (1997). Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *Journal of Clinical Periodontology* 24(5): 287-296.
19. Halliwell B (2011). Free radicals and antioxidants-quo vadis? *Trends Pharmacol* 32(3): 125-130.
20. Canakci CF, Cicek Y, Yildirim A, Sezer U and Canakci V (2009). Increased levels of 8-hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde and its relationship with antioxidant enzymes in saliva of periodontitis patients. *Eur J Dent* 3(2): 100-106.
21. Erciyas AF, Erciyas K and R S (2010). Genotoxicity of two mouthwash products in the *Drosophila* Wing-Spot Test. *Food and Chemical Toxicology* 48(10): 2577–2580.
22. Newman M, Takei HH, Klokkevold PR (2006). Carranza's Clinical Periodontology 10. edition.
23. Oliver RC, Brown LJ and Loe H (1998). Periodontal diseases in the United States population. *J Periodontol* 69(2): 269-278.

24. ÖS A (2011). Kronik periodontitisli bireylerde sigara kullanımının ,serum ve tükürük total antioksidan kapasite , total oksidatif durum ve lipid peroksidasyon düzeylerine etkisinin değerlendirilmesi. Doktora tezi Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
25. Armitage GC (2002). Classifying periodontal diseases--a long-standing dilemma. *Periodontol* 2000 30: 9-23.
26. Oliver RC, Brown LJ and Loe H (1998). Periodontal diseases in the United States population. *Journal of Periodontology* 69(2): 269-278.
27. Barnett ML (2003). The role of therapeutic antimicrobial mouthrinses in clinical practice: control of supragingival plaque and gingivitis. *J Am Dent Assoc* 134(6): 699-704.
28. Lindhe J KT LN (2003). Clinical periodontology and implant dentistry: 198-208.
29. Armitage GC (2004). Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontol* 2000 34: 9-21.
30. Rajabalian S, Mohammadi M and Mozaffari B (2009). Cytotoxicity evaluation of Persica mouthwash on cultured human and mouse cell lines in the presence and absence of fetal calf serum. *Indian J Dent Res* 20(2): 169-173.
31. Von der Fehr FR, Loe H and Theilade E (1970). Experimental caries in man. *Caries Res* 4(2): 131-148.
32. Külekçi G, Çintan S.,Dülger O. (1999). Diş Hekimliğinde antimikrobiyal ağız gargalarının kullanılması. *ANKEM dergisi* 13(3): 208-213.
33. D. F (1994). Evaluation of antimicrobial mouthrinses and their effectiveness. *JADA* 125: 11.
34. F. Ü (2009). Ortodonti hastalarında üç farklı gargaranın 4-günlük supragingival dental plak üzerine etkilerinin araştırılması. T.C. Yeditepe Üniversitesi SağlıkBilimleri Enstitüsü Ortodonti A.D. Doktora tezi.
35. Bollen CM, Mongardini C, Papaioannou W, Van Steenberghe D and Quirynen M (1998). The effect of a one-stage full-mouth disinfection on different intra-oral niches. Clinical and microbiological observations. *J Clin Periodontol* 25(1): 56-66.
36. Axelsson P (1993). Current role of pharmaceuticals in prevention of caries and periodontal disease. *Int Dent J* 43(5): 473-482.

37. Mandel ID (1994). Antimicrobial mouthrinses: overview and update. J Am Dent Assoc 125 Suppl 2: 2S-10S.
38. Cianco SG NR, Newman MG (1994). Control and preventive of periodontal disease. Oral Microbiology and Immunology: 385.
39. Tazegul S. KMM, Topuz O., Ozcan S., Cekic A.A., Erten H. (2006). Üç farklı solüsyonun Streptococcus mutans ve Entereococcus Faecalis üzerine antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesi Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi 27: 153-158.
40. Ataoğlu T GM (1999). Periodontoloji. 3. Baskı, Damla Ofset, Konya: 122-123.
41. Arabaci T., Canakci C. F., Turkez H. and M. O (2009). A study on the toxic effects of chx on human lymphocytes in vitro, Europerio Congress, Stockholm, Sweden
42. Grassi TF, Camargo EA, Salvadori DM, Marques ME and Ribeiro DA (2007). DNA damage in multiple organs after exposure to chlorhexidine in Wistar rats. Int J Hyg Environ Health 210(2): 163-167.
43. Xue Y, Zhang S, Yang Y, Lu M, Wang Y, Zhang T, Tang M and Takeshita H (2011). Acute pulmonary toxic effects of chlorhexidine (CHX) following an intratracheal instillation in rats. Hum Exp Toxicol 30(11): 1795-1803.
44. A. D (2009). Klorhekzidin Glukonat ve Benzidamin HCL karışımının farmasötik preparattan analizi için yüksek performanslı sıvı kromatografik ve spektrofotometrik yöntemlerin geliştirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; Ankara.
45. Loe H and Schiott CR (1970). The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. J Periodontal Res 5(2): 79-83.
46. Lang NP, Hotz P, Graf H, Geering AH, Saxer UP, Sturzenberger OP and Meckel AH (1982). Effects of supervised chlorhexidine mouthrinses in children. A longitudinal clinical trial. J Periodontal Res 17(1): 101-111.
47. Loe H, Schiott CR, Karring G and Karring T (1976). Two years oral use of chlorhexidine in man. I. General design and clinical effects. J Periodontal Res 11(3): 135-144.

48. Charles CH, Mostler KM, Bartels LL and Mankodi SM (2004). Comparative antiplaque and antigingivitis effectiveness of a chlorhexidine and an essential oil mouthrinse: 6-month clinical trial. *J Clin Periodontol* 31(10): 878-884.
49. Stoeken JE, Paraskevas S and van der Weijden GA (2007). The long-term effect of a mouthrinse containing essential oils on dental plaque and gingivitis: a systematic review. *J Periodontol* 78(7): 1218-1228.
50. Teles P. R. TFRF (2008). Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? Oral Health Self-Care Products: Realities and Myths” international symposium, São Paulo, SP, Brazil.
51. Fine DH FD, Sinatra K, Charles C, McGuire A, Kumar LD. (2005). In vivo antimicrobial effectiveness of an essential oil-containing mouth rinse 12 h after a single use and 14 days’ use. *J Clin Periodontol* 32: 335–340.
52. Albert-Kiszely A PB, Salvi GE, Witt J, Hamilton A, Persson GR, Lang NP. (2007). Comparison of the effects of cetylpyridinium chloride with an essential oil mouth rinse on dental plaque and gingivitis – a six-month randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 34: 658–667.
53. Pan P, Barnett ML, Coelho J, Brogdon C and Finnegan MB (2000). Determination of the in situ bactericidal activity of an essential oil mouthrinse using a vital stain method. *J Clin Periodontol* 27(4): 256-261.
54. DePaola LG, Minah GE, Overholser CD, Meiller TF, Charles CH, Harper DS and McAlary M (1996). Effect of an antiseptic mouthrinse on salivary microbiota. *Am J Dent* 9(3): 93-95.
55. Pitts G, Brogdon C, Hu L, Masurat T, Pianotti R and Schumann P (1983). Mechanism of action of an antiseptic, anti-odor mouthwash. *J Dent Res* 62(6): 738-742.
56. Ouhayoun J-P ((2003)). Penetrating the plaque biofilm: impact of essential oil mouthwash. *Journal of Clinical Periodontology* 30: 10–12.
57. Flemingson, Emmadi P, Ambalavanan N, Ramakrishnan T and Vijayalakshmi R (2008). Effect of three commercial mouth rinses on cultured human gingival fibroblast: an in vitro study. *Indian J Dent Res* 19(1): 29-35.

58. Welk A, Rosin M, Ludtke C, Schwahn C, Kramer A and Daeschlein G (2007). The peritoneal explant test for evaluating tissue tolerance to mouthrinses. *Skin Pharmacol Physiol* 20(3): 162-166.
59. bs.). TMI ((1996)). New Jersey: Merck and Co., Inc.
60. Clarke's Isolation and Identification of Drugs. Ed ES (1986.). Dreenfield: 533-534.
61. Pikdöken LM (1997). Periodontal Ceplere Uygulanan Klorheksidin ve Benzidamin HCl'ün etkilerinin Klinik, Mikrobiyolojik ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi. T.C. Genel Kurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Sağlık Bilimleri Merkezi, Periodontoloji A.D.
62. Özkan CK (2003). Sürekli Etkili Bir Preparat Geliştirilmesi. Eczacılık Bilimleri Merkezi Yüksek Lisans Tezi, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
63. Catanese B, Lagana A, Curini L, Del Bosco M and Colloca A (1988). Bioequivalence study of two liquid formulations of benzydamine. *Biopharm Drug Dispos* 9(1): 113-118.
64. Nettis E, Di Paola R, Napoli G, Ferrannini A and Tursi A (2002). Benzydamine: an alternative nonsteroidal anti-inflammatory drug in patients with nimesulide-induced urticaria. *Allergy* 57(5): 442-445.
65. Martindale. TEP (2003). The Pharmac Pres, London, 33 th. Edition.
66. Cioli V, Corradino C and Scorza Barcellona P (1985). Review of pharmacological data on benzydamine. *Int J Tissue React* 7(3): 205-213.
67. Bansal J, Kedige SD and Anand S (2010). Hyaluronic acid: a promising mediator for periodontal regeneration. *Indian J Dent Res* 21(4): 575-578.
68. AL-Bayaty F. H. T-aTB, Abdulla MA, Mahmud Z.B. (2011). Antibacterial effects of Oradex, Gengigel an Salviathymol-n mouthwash on dental biofilm bacteria. *African Journal of Microbiology Research* 5(6): 636-642.
69. Fawzy El-Sayed KM, Dahaba MA, Aboul-Ela S and Darhous MS (2012). Local application of hyaluronan gel in conjunction with periodontal surgery: a randomized controlled trial. *Clin Oral Investig* 16(4): 1229-1236.
70. Vandana NSKL (2011). Evaluation of hyaluronan gel (Gengigel) as a topical applicant in the treatment of gingivitis. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry* 2: 162–170.

71. Şahin S, Saygun I, Kurt B, Çanakçı F, Akyol M, Altuğ H, Kurtiş B and Şençimen M (2009). Lokal antimikrobiyal ajanların palatinal bölgeden alınan greft alanındaki doku defektinin iyileşmesi üzerine etkilerinin histomorfometrik yöntemle incelenmesi. *Gülhane Tıp Dergisi* 51: 27-33.
72. de Araujo Nobre M, Cintra N and Malo P (2007). Peri-implant maintenance of immediate function implants: a pilot study comparing hyaluronic acid and chlorhexidine. *Int J Dent Hyg* 5(2): 87-94.
73. Nolan A, Baillie C, Badminton J, Rudralingham M and Seymour RA (2006). The efficacy of topical hyaluronic acid in the management of recurrent aphthous ulceration. *J Oral Pathol Med* 35(8): 461-465.
74. Al-Bayat F, Abdulla M and Darwish P (2011). Evaluation of hyaluronate anti-ulcer activity against gastric mucosal injury. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 5(1): 23-30.
75. Hammad HM, Hammad MM, Abdelhadi IN and Khalifeh MS (2011). Effects of topically applied agents on intra-oral wound healing in a rat model: a clinical and histomorphometric study. *Int J Dent Hyg* 9(1): 9-16.
76. Anasayfası GR <http://www.gengigel.rs/sr/lekar-savetuje>.
77. F. Al Bayaty MA, M. I. Abu Hassan and M. Masud (2010). Wound healing potential by hyaluronate gel in streptozotocin-induced diabetic rats. *Scientific Research and Essays* 5(18): 2756-2760.
78. Laurent TC, Laurent UB and Fraser JR (1995). Functions of hyaluronan. *Ann Rheum Dis* 54(5): 429-432.
79. Tanrıku ŞH (2006). Demineralize sığır kemiği grefti(bbp®) ile B-tricalsiyum fosfat kemik greftinin(fortos® resorb) osteoblast hücre kültürü üzerine etkilerinin in vitro incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul.
80. Akbaba G, Sunay, Ç. (Mayıs 2000). Hayvan Deneyleri Yararsız ve Acımasız Çalışmalar mı, Sağlığımız İçin Önemli Bir Gereksinim mi? *Bilim ve Teknik*.
81. Browne RM (1988). The in vitro assessment of the cytotoxicity of dental materials--does it have a role? *Int Endod J* 21(2): 50-58.
82. Helfrich MH, Ralston, S.H. (2003). Bone research protocols. Humana Press Inc., Totowa.

83. Doyle A, Griffiths, J.B. (1998). Cell and tissue culture laboratory procedures in biotechnology. John Wiley & Sons Ltd.,England.
84. Davis J (1994). Basic cell culture. Oxford Uni. Press.
85. Ovalle WK and Nahirney PC (2009). Netter Temel Histoloji. Ankara. Saunders Elsevier.
86. Ross MH, Lynn JR and Kaye GI (1995). Histology a text and atlas (Third bs.),Baltimore. Encourage Creativity.
87. ÜNLÜ L (2010). Gingival Fibroblastların Ankaferd İle İn Vitro Koşullarda Etkileşimi. T.C.Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Cerrahi (Diş) Programı Doktora Tezi.
88. Kent LW, Rahemtulla F and Michalek SM (1999). Interleukin (IL)-1 and Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide stimulation of IL-6 production by fibroblasts derived from healthy or periodontally diseased human gingival tissue. J Periodontol 70(3): 274-282.
89. Ren L, Leung WK, Darveau RP and Jin L (2005). The expression profile of lipopolysaccharide-binding protein, membrane-bound CD14, and toll-like receptors 2 and 4 in chronic periodontitis. J Periodontol 76(11): 1950-1959.
90. Erdemir EO, Mısırlıoğlu M, Nalçacı R and Apan T (2007). Kronik periodontitisli tedavinin klinik parametreler ve dişeti oluşu sıvısı IL-6 ve IL-8 miktarı üzerine etkisi. . T Klin J Dental Sci: 13: 41-47.
91. Canakci CF, Cicek Y and Canakci V (2005). Reactive oxygen species and human inflammatory periodontal diseases. Biochemistry (Mosc) 70(6): 619-628.
92. Sezer U (2006). Plağa Bağlı Gingivitisli, Kronik Periodontitisli Ve Periodontal Olarak Sağlıklı Bireylerde DNA Hasarının Bir Markırı Olarak Total Tükürük 8-Hidroksideoksiguanozin Seviyelerinin Değerlendirilmesi. T.C. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji Anabilim Dalı,Erzurum.
93. Gracy RW, Talent JM, Kong Y and Conrad CC (1999). Reactive oxygen species: the unavoidable environmental insult? Mutat Res 428(1-2): 17-22.
94. Shackelford RE, Kaufmann WK and Paules RS (2000). Oxidative stress and cell cycle checkpoint function. Free Radic Biol Med 28(9): 1387-1404.
95. Chapple IL and Matthews JB (2007). The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. Periodontol 2000 43: 160-232.

96. Li M (2007). KGF -1 and KGF Receptor Expression in Human Periodontal Disease and In vitro Microwounding- Associated Ligand -Independent KGFR activation, Doctorate Thesis. The University of British Columbia.
97. Halliwell B and Gutteridge JM (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 219(1): 1-14.
98. Nikjoo H, O'Neill P, Terrissol M and Goodhead DT (1994). Modelling of radiation-induced DNA damage: the early physical and chemical event. *Int J Radiat Biol* 66(5): 453-457.
99. Miyasaki KT, Wilson M, Brunetti AJ and Genco RJ (1986). Oxidative and Nonoxidative Killing of *Actinobacillus- Actinomycetecomitans* by Human-Neutrophils. *Infection and Immunity* 53: 154-160.
100. Thompson HL and Wilton JMA (1991). Effects of Anaerobiosis on Interactions of Human Polymorphonuclear Leukocytes with the Dental Plaque Bacteria *Streptococcus-Mutan*, *Capnocytophaga-Ochracea*, and *Bacteroides-Gingivalis*. *Infection and Immunity* 59: 932-940.
101. Akalin FA, Baltacioglu E, Alver A and Karabulut E (2009). Total antioxidant capacity and superoxide dismutase activity levels in serum and gingival crevicular fluid in pregnant women with chronic periodontitis. *J Periodontol* 80(3): 457-467.
102. Maddux BA, See W, Lawrence JC, Jr., Goldfine AL, Goldfine ID and Evans JL (2001). Protection against oxidative stress-induced insulin resistance in rat L6 muscle cells by micromolar concentrations of alpha-lipoic acid. *Diabetes* 50(2): 404-410.
103. Akbayram S, Dogan M, Akgun C, Mukul Y, Peker E, Bay A, Caksen H and Oner AF (2010). The association of oxidant status and antioxidant capacity in children with acute and chronic ITP. *J Pediatr Hematol Oncol* 32(4): 277-281.
104. Memisogullari R and Bakan E (2004). Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 18(4): 193-197.
105. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M and Lunec J (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J* 17(10): 1195-1214.
106. Pendyala G, Thomas B and Kumari S (2008). The challenge of antioxidants to free radicals in periodontitis. *J Indian Soc Periodontol* 12(3): 79-83.

107. Tarpey MM and Fridovich I (2001). Methods of detection of vascular reactive species: nitric oxide, superoxide, hydrogen peroxide, and peroxynitrite. *Circ Res* 89(3): 224-236.
108. Erel O (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 38(12): 1103-1111.
109. Aycicek A, Varma M, Ahmet K, Abdurrahim K and Erel O (2011). Maternal active or passive smoking causes oxidative stress in placental tissue. *Eur J Pediatr* 170(5): 645-651.
110. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN and Bullon P (2002). The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol* 29(3): 189-194.
111. Erel O (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 37(4): 277-285.
112. Chapple IL, Brock GR, Milward MR, Ling N and Matthews JB (2007). Compromised GCF total antioxidant capacity in periodontitis: cause or effect? *J Clin Periodontol* 34(2): 103-110.
113. White LW, Erickson, M., Stewens, S. (1976). *Chemistry for the clinical laboratory*. 4.th Ed. Mosby, St. Louis,: 63.
114. Latner A, Cantarow, A., Trumper, M. (1969). *Clinical biochemistry*. 7.th Ed. Saunders, Philadelphia: 555.
115. Zilva J. PP, Özgönen T.(çeviri) (1971). *Tanı ve tedavide klinik biyokimya* 2.nd Ed. Ankara: 274.
116. Bakır SÇ (1984). Laktat dehidrogenaz tayini için klinik kullanıma uygun yöntem araştırması. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilimdalı,Sivas.
117. Lamster IB, Vogel RI, Hartley LJ, DeGeorge CA and Gordon JM (1985). Lactate dehydrogenase, beta-glucuronidase and arylsulfatase activity in gingival crevicular fluid associated with experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 56(3): 139-147.
118. Fine DH and Mandel ID (1986). Indicators of periodontal disease activity: an evaluation. *J Clin Periodontol* 13(5): 533-546.

119. Lamster IB, Mandella RD and Gordon JM (1985). Lactate dehydrogenase activity in gingival crevicular fluid collected with filter paper strips: analysis in subjects with non-inflamed and mildly inflamed gingiva. *J Clin Periodontol* 12(2): 153-161.
120. Smith QT and Geegan SJ (1991). Repeated measurement of crevicular fluid parameters at different sites. *J Clin Periodontol* 18(3): 171-176.
121. Lamster IB, Wallenstein S, Sengupta S and Duffy T (1990). Within-mouth correlations for indicators of the host response in gingival crevicular fluid. *Arch Oral Biol* 35(10): 779-783.
122. Harper DS, Lamster IB and Celenti R (1989). Relationship of subgingival plaque flora to lysosomal and cytoplasmic enzyme activity in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 16(3): 164-169.
123. Lamster IB, Oshrain RL and Gordon JM (1986). Enzyme activity in human gingival crevicular fluid: considerations in data reporting based on analysis of individual crevicular sites. *J Clin Periodontol* 13(8): 799-804.
124. Lamster IB, Oshrain RL, Harper DS, Celenti RS, Hovliaras CA and Gordon JM (1988). Enzyme activity in crevicular fluid for detection and prediction of clinical attachment loss in patients with chronic adult periodontitis. Six month results. *J Periodontol* 59(8): 516-523.
125. Oliver RC, Tervonen T, Flynn DG and Keenan KM (1993). Enzyme activity in crevicular fluid in relation to metabolic control of diabetes and other periodontal risk factors. *J Periodontol* 64(5): 358-362.
126. Erel O (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 37(2): 112-119.
127. Erdemir EO, Sengun A and Ulker M (2007). Cytotoxicity of mouthrinses on epithelial cells by micronucleus test. *Eur J Dent* 1(2): 80-85.
128. Tsourounakis I, Palaiologou A, Stoute D, Maney P and Lallier TE (2012). Effect of Essential Oil and Chlorhexidine Mouthwashes on Gingival Fibroblast Survival and Migration. *J Periodontol*.
129. Babich H, Wurzbarger BJ, Rubin YL, Sinensky MC and Blau L (1995). An in vitro study on the cytotoxicity of chlorhexidine digluconate to human gingival cells. *Cell Biol Toxicol* 11(2): 79-88.

130. Cline NV and Layman DL (1992). The effects of chlorhexidine on the attachment and growth of cultured human periodontal cells. *J Periodontol* 63(7): 598-602.
131. de Souza LB, de Aquino SG, de Souza PP, Hebling J and Costa CA (2007). Cytotoxic effects of different concentrations of chlorhexidine. *Am J Dent* 20(6): 400-404.
132. Goldschmidt P, Cogen R and Taubman S (1977). Cytopathologic effects of chlorhexidine on human cells. *J Periodontol* 48(4): 212-215.
133. Albert-Kiszely A, Pjetursson BE, Salvi GE, Witt J, Hamilton A, Persson GR and Lang NP (2007). Comparison of the effects of cetylpyridinium chloride with an essential oil mouth rinse on dental plaque and gingivitis - a six-month randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 34(8): 658-667.
134. Alleyn CD, O'Neal RB, Strong SL, Scheidt MJ, Van Dyke TE and McPherson JC (1991). The effect of chlorhexidine treatment of root surfaces on the attachment of human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol* 62(7): 434-438.
135. Aslan M, Simsek G and Dayi E (2006). The effect of hyaluronic acid-supplemented bone graft in bone healing: experimental study in rabbits. *J Biomater Appl* 20(3): 209-220.
136. Liu R, Li N, Liu N, Zhou X, Dong ZM, Wen XJ and Liu LC (2012). Effects of systemic ornidazole, systemic and local compound ornidazole and pefloxacin mesylate on experimental periodontitis in rats. *Med Sci Monit* 18(3): BR95-102.
137. Nishikawa T, Naruse K, Kobayashi Y, Miyajima S, Mizutani M, Kikuchi T, Soboku K, Nakamura N, Sokabe A, Tosaki T, Hata M, Ohno N, Noguchi T and Matsubara T (2012). Involvement of nitrosative stress in experimental periodontitis in diabetic rats. *J Clin Periodontol* 39(4): 342-349.
138. Kador PF, O'Meara JD, Blessing K, Marx DB and Reinhardt RA (2011). Efficacy of structurally diverse aldose reductase inhibitors on experimental periodontitis in rats. *J Periodontol* 82(6): 926-933.
139. Ku SK, Cho HR, Sung YS, Kang SJ and Lee YJ (2011). Effects of calcium gluconate on experimental periodontitis and alveolar bone loss in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 108(4): 241-250.
140. Arisu DH (2004.). Nd YAG lazerlerin Farklı Frekans ve Güçlerde Uygulanmasının İnsan Osteoblast Hücreleri Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi. *Diş*

- Hastalıklar ve Tedavisi Programı Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bil.Enstitüsü, Ankara,.
141. Koller MR, Palsson, B.O., Masters, J.R.W. (2002). Human Cell Culture. Kluwer Academic Publishers, New York, IV.
 142. BOZKURT ŞB (2009). Porphyromonas Gingivalis Lipopolisakkaritinin İnsan Gingival Fibroblastları Üzerine Etkisi. T.C. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi Biyoloji Anabilim Dalı, Konya.
 143. Khaled M, Shibani NA, Labban N, BATERSEH G, Song F, Ruby J and Windsor LJ (2013). The Effects of Resolvin D1 on Human Gingival Fibroblasts Cell Survival and Cytokine Expression. J Periodontol.
 144. Özen J (2001). Sabit Protetik Restorasyon Materyallerinin Periodontal dokular Üzerine Olan Etkilerinin İmmünolojik Yönden İncelenmesi, Dişhekimliği Bilimleri Merkezi Protetik Diş Tedavisi Programı Doktora Tezi. GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara,.
 145. İlbars N (2007). Yeni nesil metal desteksiz seramiklerin ve yapıştırılmasında kullanılan rezin simanların biyouyumluluğunun değerlendirilmesi, Dişhekimliği Bilimleri Merkezi Protetik Diş Tedavisi Programı Doktora Tezi. GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara,.
 146. Ge Y, Chen D, Xie L and Zhang R (2006). Enhancing effect of daidzein on the differentiation and mineralization in mouse osteoblast-like MC3T3-E1 cells. Yakugaku Zasshi 126(8): 651-656.
 147. Frediani B, Spreafico A, Capperucci C, Chellini F, Gambera D, Ferrata P, Baldi F, Falsetti P, Santucci A, Bocchi L and Marcolongo R (2004). Long-term effects of neridronate on human osteoblastic cell cultures. Bone 35(4): 859-869.
 148. Browne RM (1988). The in vitro assessment of the cytotoxicity of dental materials does it have a role? Int. Endod. J. 21(2): 50-58.
 149. Brauner A and Kaden P (1989). [Human gingival fibroblast cultures for biological intra-oral material testing]. Z Stomatol 86(8): 533-538.
 150. Miyasaki KT (1991). The neutrophil: mechanisms of controlling periodontal bacteria. J Periodontol 62(12): 761-774.
 151. Konuganti K, Seshan H, Zope S and Silvia WD (2012). A comparative evaluation of whole blood total antioxidant capacity using a novel nitroblue tetrazolium

- reduction test in patients with periodontitis and healthy subjects: A randomized, controlled trial. *J Indian Soc Periodontol* 16(4): 620-622.
152. Pendyala G, Thomas B and Joshi SR (2013). Evaluation of Total Antioxidant Capacity of Saliva in Type 2 Diabetic Patients with and without Periodontal Disease: A Case-Control Study. *N Am J Med Sci* 5(1): 51-57.
 153. Chapple IL, Mason GI, Garner I, Matthews JB, Thorpe GH, Maxwell SR and Whitehead TP (1997). Enhanced chemiluminescent assay for measuring the total antioxidant capacity of serum, saliva and crevicular fluid. *Ann Clin Biochem* 34 (Pt 4): 412-421.
 154. Moore S, Calder KA, Miller NJ and Rice-Evans CA (1994). Antioxidant activity of saliva and periodontal disease. *Free Radic Res* 21(6): 417-425.
 155. Sculley DV and Langley-Evans SC (2003). Periodontal disease is associated with lower antioxidant capacity in whole saliva and evidence of increased protein oxidation. *Clin Sci (Lond)* 105(2): 167-172.
 156. Baltacioglu E, Akalin FA, Alver A, Balaban F, Unsal M and Karabulut E (2006). Total antioxidant capacity and superoxide dismutase activity levels in serum and gingival crevicular fluid in post-menopausal women with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 33(6): 385-392.
 157. Canakci V, Yildirim A, Canakci CF, Eltas A, Cicek Y and Canakci H (2007). Total antioxidant capacity and antioxidant enzymes in serum, saliva, and gingival crevicular fluid of preeclamptic women with and without periodontal disease. *J Periodontol* 78(8): 1602-1611.
 158. Mariotti AJ and Rumpf DA (1999). Chlorhexidine-induced changes to human gingival fibroblast collagen and non-collagen protein production. *J Periodontol* 70(12): 1443-1448.
 159. Wilken R, Botha SJ, Grobler A and Germishuys PJ (2001). In vitro cytotoxicity of chlorhexidine gluconate, benzydamine-HCl and povidone iodine mouthrinses on human gingival fibroblasts. *SADJ* 56(10): 455-460.
 160. Lessa FC, Aranha AM, Nogueira I, Giro EM, Hebling J and Costa CA (2010). Toxicity of chlorhexidine on odontoblast-like cells. *J Appl Oral Sci* 18(1): 50-58.
 161. Hidalgo E and Dominguez C (2001). Mechanisms underlying chlorhexidine-induced cytotoxicity. *Toxicol In Vitro* 15(4-5): 271-276.

162. Pucher JJ and Daniel JC (1992). The effects of chlorhexidine digluconate on human fibroblasts in vitro. *J Periodontol* 63(6): 526-532.
163. Malhi H, Gores GJ and Lemasters JJ (2006). Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths? *Hepatology* 43(2 Suppl 1): S31-44.
164. Haffajee AD, Roberts C, Murray L, Veiga N, Martin L, Teles RP, Letteri M and Socransky SS (2009). Effect of herbal, essential oil, and chlorhexidine mouthrinses on the composition of the subgingival microbiota and clinical periodontal parameters. *J Clin Dent* 20(7): 211-217.
165. Rosin M, Welk A, Kocher T, Majic-Todt A, Kramer A and Pitten FA (2002). The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared to an essential oil rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque regrowth. *J Clin Periodontol* 29(5): 392-399.
166. Fischman SL, Aguirre A and Charles CH (2004). Use of essential oil-containing mouthrinses by xerostomic individuals: determination of potential for oral mucosal irritation. *Am J Dent* 17(1): 23-26.
167. Sharma N, Charles CH, Lynch MC, Qaqish J, McGuire JA, Galustians JG and Kumar LD (2004). Adjunctive benefit of an essential oil-containing mouthrinse in reducing plaque and gingivitis in patients who brush and floss regularly: a six-month study. *J Am Dent Assoc* 135(4): 496-504.
168. Van Leeuwen MP, Slot DE and Van der Weijden GA (2011). Essential oils compared to chlorhexidine with respect to plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *J Periodontol* 82(2): 174-194.
169. Sharma NC, Araujo MW, Wu MM, Qaqish J and Charles CH (2010). Superiority of an essential oil mouthrinse when compared with a 0.05% cetylpyridinium chloride containing mouthrinse: a six-month study. *Int Dent J* 60(3): 175-180.
170. S S (2003). The effects of mouthwash on micronucleus formation in human buccal epithelial cells and KB cell line. . Mahidol University, Faculty of Graduate Studies, Master Thesis, ISBN: 974-04-3425-8.
171. (2001). Pfizer Material Safety Data Sheet WL018 - Listerine1 Antiseptic-Coolmint.,
172. Mitic-Culafic D, Zegura B, Nikolic B, Vukovic-Gacic B, Knezevic-Vukcevic J and Filipic M (2009). Protective effect of linalool, myrcene and eucalyptol against

- t-butyl hydroperoxide induced genotoxicity in bacteria and cultured human cells. *Food Chem Toxicol* 47(1): 260-266.
173. Sironi M, Milanese C, Vecchi A, Polenzani L, Guglielmotti A, Coletta I, Landolfi C, Soldo L, Mantovani A and Pinza M (1997). Benzydamine inhibits the release of tumor necrosis factor-alpha and monocyte chemotactic protein-1 by *Candida albicans*-stimulated human peripheral blood cells. *Int J Clin Lab Res* 27(2): 118-122.
 174. Modeer T and Yucel-Lindberg T (1999). Benzydamine reduces prostaglandin production in human gingival fibroblasts challenged with interleukin-1 beta or tumor necrosis factor alpha. *Acta Odontol Scand* 57(1): 40-45.
 175. Muller-Peddinghaus R (1987). Pathophysiology and pharmacology of reactive oxygen species in inflammation. *Arzneimittelforschung* 37(5A): 589-600.
 176. Mesa FL, Aneiros J, Cabrera A, Bravo M, Caballero T, Revelles F, del Moral RG and O'Valle F (2002). Antiproliferative effect of topic hyaluronic acid gel. Study in gingival biopsies of patients with periodontal disease. *Histol Histopathol* 17(3): 747-753.
 177. Bogovic A, Nizetic J, Galic N, Zeljezic D, Micek V and Mladinic M (2011). The effects of hyaluronic acid, calcium hydroxide, and dentin adhesive on rat odontoblasts and fibroblasts. *Arh Hig Rada Toksikol* 62(2): 155-161.
 178. Abatangelo G, Barbucci R, Brun P and Lamponi S (1997). Biocompatibility and enzymatic degradation studies on sulphated hyaluronic acid derivatives. *Biomaterials* 18(21): 1411-1415.
 179. Hellstrom S and Laurent C (1987). Hyaluronan and healing of tympanic membrane perforations. An experimental study. *Acta Otolaryngol Suppl* 442: 54-61.
 180. Ke C, Sun L, Qiao D, Wang D and Zeng X (2011). Antioxidant acitivity of low molecular weight hyaluronic acid. *Food Chem Toxicol* 49(10): 2670-2675.
 181. Bucak MN, Atessahin A, Varisli O, Yuce A, Tekin N and Akcay A (2007). The influence of trehalose, taurine, cysteamine and hyaluronan on ram semen Microscopic and oxidative stress parameters after freeze-thawing process. *Theriogenology* 67(5): 1060-1067.

182. Balogh GT, Illes J, Szekely Z, Forrai E and Gere A (2003). Effect of different metal ions on the oxidative damage and antioxidant capacity of hyaluronic acid. *Arch Biochem Biophys* 410(1): 76-82.

9. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı	:ŞAYBAK, Arif
Uyruğu	:T.C.
Doğum tarihi ve yeri	:Adana-1984
Medeni hali	:Bekar
Telefon	:04223416254
Faks	:-
E-Posta	:arif_saybak@yahoo.com
Yazışma adresi	:İnönü Üni. DHF. Periodontoloji A.D.

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans ve Yüksek Lisans	Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2007
Lise	Özel Ali ve Rükiye Özgören Süper Lisesi	2002-2007

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
1. Araş. Gör.	KTÜ Diş Hekimliği A.D.	Fak. Periodontoloji 2007-2011
2. Öğr. Gör.	İnönü Üni. Diş Hekimliği Fak. Periodontoloji A.D.	2012-Halen

YABANCI DİL

İngilizce

UZMANLIK ALANI

Periodontoloji

YAYINLAR/BİLDİRİLER

1. Baltacıoğlu E; Aslan M, Saraç Ö, Saybak A, Yuva P (2011). Analysis of Clinical Results of Systemic Antimicrobials Combined with Nonsurgical Periodontal Treatment for Generalized Aggressive Periodontitis: A Pilot Study. J Can Dent Assoc 77:b97

2. Arabacı T, Türkez H, Çiçek Y, Geyikoğlu F, Tatar A, Keleş MS, Şaybak A, Kızıldağ A (2013) Klorhekzidin diglukonatın İnsan Periferik Kan Kültürlerinde Antioksidan Enzim Seviyeleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Sivas Cumhuriyet Üni. Diş Hek. Dergisi (Basım Aşamasında)

3. Yuva, P., Ö. Saraç, A. Şaybak, U.Sezer ve E. Baltacıoğlu, ‘KTÜ Dişhekimliği Fakültesine başvuran bireylerin periodontal durumlarının değerlendirilmesi’, 38. Periodontoloji Bilimsel Kongresi, İstanbul,2008(Poster)

4. Şaybak A, Aslan M, Yuva P,Saraç Ö, Köse O, Baltacıoğlu E. Böbrek Transplantasyonu Uygulanacak Kronik Böbrek Yetmezliği Hastalarının Klinik Ve Periodontal Durumlarının Değerlendirilmesi. Türk Periodontoloji Derneği 39. Bilimsel Kongresi, Ankara, 2009 , (Poster).

5.Baltacıoğlu, E., M. Aslan, Ö. Saraç, A. Şaybak, P. Yuva ‘Generalize agresfi periodontitisin cerrahi-olmayan tedavisinde sistemik antimikrobiyal yaklaşımların klinik etkinliğinin incelenmesi’, 39. Periodontoloji Bilimsel Kongresi, Ankara, 2009 (Poster)

6. Yuva P, Baltacıoğlu E, Saraç Ö, Şaybak A.Generalize Kronik Periodontitisin Cerrahi – Olmayan Tedavisinde Metranidazol+Amoksisilin Kombinasyonunun Klinik Etkisi : Pilot Çalışma. Türk Periodontoloji Derneği 40. Bilimsel Kongresi İzmir 2010, (Poster)

HOBİLER

Aikido, Dağcılık , Bisiklete binmek, Kayak yapmak

