T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA SİKLOSPORİN VE TAKROLİMUS UYGULAMASININ PERİODONTAL DOKULAR ÜZERİNE ETKİLERİ

Dt.Ural KARADUMAN

DOKTORA TEZİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Mihtikar GÜRSEL

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 09202006 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2011

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Ural KARADUMAN tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Periodontoloji Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	"Doç. Dr. Gülden EREŞ" Ankara Üniversitesi	İmza
Danışman:	"Prof. Dr. Mihtikar GÜRSEL" Selçuk Üniversitesi	İmza
Üye:	"Prof. Dr. Tamer ATAOĞLU" Selçuk Üniversitesi	İmza
Üye:	"Prof. Dr. İlhami ÇELİK" Selçuk Üniversitesi	İmza
Üye:	"Prof. Dr. Nilgün Ö. ALPTEKİN" Selçuk Üniversitesi	İmza

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu ..... tarih ve ..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

İmza
"Prof. Dr. Tevfik TEKELİ"
Enstitü Müdürü

ii. ÖNSÖZ

Projemizi desteklediği için Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne,

Çalışmamız boyunca bilgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocalarım S.Ü Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof.Dr İlhami Çelik ve Doç.Dr Yasemin Öznurlu'ya,

Doktora eğitimim boyunca üzerimde emeği bulunan başta danışman hocam Prof.Dr Mihtikar Gürsel olmak üzere değerli hocalarım Prof.Dr. Tamer Ataoğlu, Prof.Dr. Nilgün Özlem Alptekin, Prof.Dr. İsmet Duran, Prof.Dr. İsmail Marakoğlu ve Doç.Dr Sema Hakkı'ya; her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen başta ailem olmak üzere nişanlıma ve arkadaşlarıma,

Teşekkürlerimi sunarım.

iii.İÇİNDEKİLER

Sayfa

1. GİRİŞ 1

1.1. Dişeti Hastalıkları 2

1.2. Dişeti Büyümeleri 2

1.3. İlaca Bağlı Dişeti Büyümeleri 3

1.3.1. Antikonvülsanlar 4

1.3.2. Kalsiyum Kanal Blokerleri 5

1.3.3. İmmünsupresanlar 6

Siklosporin-A 6

CsA'nın immünosupresif etki mekanizması 9

Yumuşak doku ve kemik iyileşmesi üzerine etki mekanizması 11

Takrolimus 12

İmmünosupresif etki mekanizması 13

1.4. İlaca Bağlı Dişeti Büyümelerinin Histopatolojik Özellikleri 14

1.5. İlaca Bağlı Dişeti Büyümelerinin Risk Faktörleri 15

1.5.1. Yaş ve Diğer Demografik Değişkenler 15

1.5.2. Plağın İndüklediği Enflamatuar ve İmmunolojik Değişkenlerin Rolü 16

1.6. İlaca Bağlı Dişeti Bağ Dokusu Homeostazındaki Değişiklikler 19

2. GEREÇ VE YÖNTEM 20

2.1. Deney Hayvanları 20

2.2. Deney Grupları 20

2.3. Histolojik Takip İşlemleri 20

2.3.1. Parafin Bloklama 21

2.4. Boyama 22

2.4.1. Triple Boyama 22

2.4.2. TRAP Enzim Demonstrasyonu 22

2.5. Histomorfometrik Analizler 22

2.6. İstatistik Analizleri 22

3. BULGULAR 23

3.1.Klinik Bulgular 23

3.2.TRAP Enzim Histokimyası Sonuçları 24

3.3. Histomorfometri Sonuçları 27

4. TARTIŞMA 34
4.1. Hayvan Çalışmaları 36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 39
6. ÖZET 40
7. SUMMARY 41
8. KAYNAKLAR 42
9. EKLER 48
9.1. EK-A: Etik Kurul Kararı 48
10.ÖZGEÇMİŞ 49

iv. SİMGELER ve KISALTMALAR

BUN: kan üre azotu

C: Epitel yüksekliği

CsA: Siklosporin-A

CP: Siklofilin

Dfh: Difenilhidantoin

DOS: Dişeti oluğu sıvısı

E: Toplam epitel kalınlığı

FKBPs: FK-bağlayıcı proteinler

H: Dişeti bağ dokusu yüksekliği

HPLC: High Performance Liquid Chromotography

HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein

IL: İnterlökin

L: Dişeti bağ dokusu genişliği.

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein

LTB4: Lökotrien-B4

Med: Median

Min-Maks: Minimum- Maksimum

NFAT: Aktive edilmiş T hücresi nükleer faktörü

Ort: Ortalama

PDGF: Platelet derive büyüme faktörü

RIA: Radioimmunoassay

PAF: Platelet aktivasyon faktörü

SEM: Scanning elektron mikroskop

Ss: Standart sapma

Tak: Takrolimus

TH Res.: T hücresi reseptörü

TNF: Tümör nekroz faktör

1.GİRİŞ

Periodontal dokular, dişeti, periodontal ligament, kök yüzeylerini kaplayan sement ve alveol kemiği gibi dişleri destekleyen dokulardan oluşmaktadır. Periodontitis, spesifik mikroorganizmalar/mikroorganizma gruplarının neden olduğu, periodontal cep oluşumu, dişeti çekilmesi veya her ikisiyle birlikte ilerleyen, periodontal ligament ve alveoler kemiğin yıkımıyla sonuçlanan, dişin destek dokularının enflamatuar hastalığı olarak tanımlanır. Enflamasyonun klinik bulgularının, ataşman kaybına neden olmaksızın dişeti ile sınırlı olarak izlendiği enflamatuar hastalık ise gingivitis olarak adlandırılır (Novak 2006). Dişeti büyümeleri, dişeti hastalıklarının önemli konularından biridir. Dişeti büyümelerinin etiyolojileri ve patogenezleri hakkındaki araştırmalarda, bu büyümelerin lokalize iltihabi ve/veya sistemik nedenlere bağlı olarak ve bazı ilaçların kullanılmaları sonucunda bir yan etki olarak ortaya çıktığı belirlenmiştir (Armitage 1999). Dişeti büyümeleri; dişeti dokusunun tamamının veya bir kısmının hacminde meydana gelen artış olarak tanımlanmıştır. Dişeti büyümesi, plak kontrolünü zorlaştırmasının yanı sıra estetik bozukluklar, yalancı cep oluşumu ve sonrasında cep içindeki mikrobiyal aktivitenin artması ile ataşman kaybı gibi olaylara yol açmaktadır. Dişeti dokularında görülen büyümelerin temelinde çok sayıda değişik etken yer almaktadır. Dişeti büyümesi, dişeti hastalığının temel kriterlerinden biridir ve meydana gelmesinde iatrojenik, kalıtımsal veya idiopatik sebepler söz konusu olabilir (Glickman 1972).

1.1. Dişeti Hastalıkları

Dişhekimliğinde, periodontal hastalıklar diş kayıplarının önemli nedeni olarak halen güncelliğini korumaktadır. Dişeti büyümeleri; dişeti anatomisini değiştirdiklerinden ve estetik/fonksiyonunun bozulmasına yol açtıklarından dolayı periodontal hastalıkların önemli bir bölümünü oluştururlar. Hastalıkların sınıflandırılmaları; hastalığın etiyolojisi, patogenezi ve tedavisi ile ilgili yapılan çalışmalarda ortak bir dil oluşturulması açısından önemlidir. Fakat periodonsiyumu etkileyen hastalıkların ve durumların sınıflandırılmasında eksiklikler olduğu görülmüştür. Amerikan Periodontoloji Akademisi 1999'da 'Periodontal Hastalıklar ve Durumların Sınıflandırılması' adı altında yeni bir sınıflama önermiştir (Novak 2006). Bu yeni sınıflamada, 'Gingival Hastalıklar' başlığı altında yeni eklenen bölümün alt sınıfları aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

Gingival Hastalıklar:

A. Dental plak varlığına bağlı olarak gelişen gingival hastalıklar

I. Sadece dental plakla ilişkili gingivitis

II. Sistemik faktörler tarafından modifiye edilen gingival hastalıklar

III. İlaçlar tarafından modifiye edilen gingival hastalıklar

1. İlaca bağlı dişeti büyümeleri

2. İlaca bağlı gingivitisler (Oral kontraseptifler)

IV. Malnütrisyonla modifiye edilen gingival hastalıklar

B. Dental plak varlığından bağımsız olarak gelişen gingival lezyonlar

1.2. Dişeti Büyümeleri

'Dişeti büyümesi' terimi, tüm ilaca bağlı gingival lezyonların tanımlanması için kullanılmaktadır. Önceden kullanılan 'gingival hiperplazi' veya 'gingival hipertrofi' terimleri, farmakolojik olarak modifiye edilen dişetinin histolojisini doğru olarak yansıtmadığı için, bu terimlerin yerini günümüzde 'dişeti büyümesi' terimi almıştır.

Dişeti büyümelerinin sınıflandırılması yazarlara göre farklılık göstermektedir. Carranza ise bunu daha da genişletmiş, sistemik durumlardan kaynaklanan dişeti büyümelerini ve neoplastik gelişimleri de içine almıştır. Bu sınıflamada dişeti büyümeleri aşağıdaki gibi gruplandırılmıştır (Carranza 2006).

I-İltihabi dişeti büyümeleri

a) Akut

b) Kronik

II- İlaca bağlı dişeti büyümeleri

III-Sistemik hastalıklarla ilişkili dişeti büyümeleri

a) Durumsal Büyümeler

1) Hamilelik

2) Puberte

3) Vitamin C eksikliği

4) Plazma hücreli gingivitis

5) Spesifik olmayan durumsal büyümeler (piyojenik granuloma)

b) Dişeti büyümesine neden olan sistemik hastalıklar

1) Lösemi

2) Granülamatöz hastalıklar (Wegener granulomatosis, sarcoidosis)

IV- Neoplastik dişeti büyümeleri

a) Benign tümörler

b) Malign tümörler

V-Yalancı büyümeler

Dişeti büyümelerinin, dağılım ve lokalizasyonlarına göre yapılan sınıflandırma ise aşağıdaki gibidir (Carranza 2006).

1- Lokalize dişeti büyümeleri: Ağızda tek bir dişe veya bir grup dişe ait dişeti büyümeleridir.

2- Generalize dişeti büyümeleri: Tüm dişetlerini kapsayan dişeti büyümeleridir.

3- Marjinal dişeti büyümeleri: Dişeti kenarında sınırlı olan dişeti büyümeleridir.

4- Papiller dişeti büyümeleri: İnterdental papille sınırlı dişeti büyümeleridir.

5- Diffüz dişeti büyümeleri: Dişeti kenarı, yapışık dişeti ve papili içine alan dişeti büyümeleridir.

6- İzole dişeti büyümeleri: Tümöre benzer saplı dişeti büyümeleridir.

1.3. İlaca Bağlı Dişeti Büyümeleri

Esas olarak üç ana grup ilacın dişeti büyümesine neden olduğu bilinmektedir (Academy Report, 2004). Bunlar;

-Antikonvülsanlar,

- Kalsiyum kanal blokerleri,

- İmmünosupresanlardır.

İltihabi dişeti büyümeleri, kötü ağız hijyeni, ağızdan solunum, uygun olmayan restorasyonlar gibi uzun süreli lokal irritasyonlar nedeni ile dişetindeki fibröz elementlerin proliferasyona uğraması sonucu ortaya çıkabilmektedir. Dişeti yumuşak, ödemli, parlak görünümde, hiperemik veya siyanotik, dokunmaya karşı hassas, kolayca kanayabilir ve yüzeydeki stipplingler kaybolmuştur.

İltihabi olmayan dişeti büyümelerinin klinik ve histolojik görünümleri iltihabi dişeti büyümelerinden farklıdır. Dişeti sert kıvamlı, soluk pembe renktedir, bazen stipplingler bariz şekilde belirginleşmiş, hastanın ağrı şikâyeti genelde yoktur. İdiopatik fibröz hiperplazi nadir rastlanılan, etiyolojisi bilinmeyen bir durumdur. Pek çok yazar herediter ve idiopatik hiperplaziyi aynı kategoride değerlendirmekte ve bu durum herediter gingival fibromatosis, kongenital familial fibromatosis, idiopatik

fibromatosis, kongenital makrogingiva gibi isimlerle anılmaktadır. Histolojik incelemede kollajen liflerde ve fibroblastlarda artış, epitel yüzeyinde kalınlaşma ve rete peglerde uzama olduğu görülür.

1.3.1. Antikonvülsanlar

Yaygın dişeti büyümelerinin en önemli nedeninin ilaçların oluşturduğu yan etkiler olduğu belirtilmektedir (Rees 1995). Bu ilaçların en bilineni epilepsi tedavisinde kullanılan difenilhidantoindir (Dfh). Dfh'in dişetine üzerine etkisi, 40 yıldan daha uzun süreden beri bilinmektedir (Marshall 1999). Dişeti büyümesinin ilacın kullanılmaya başlanılmasından 2-3 hafta sonra ortaya çıkabileceği, 8. ve 12. aylarda maksimum seviyeye ulaşacağı bildirilmektedir. Ancak dişeti büyümesi, Dfh kullanan hastaların tamamında görülmemektedir. Bu bireylerde; dişeti büyümesinin oluşma oranının bazı yazarlara göre %3-62 (Seymour 1992), diğerlerine göre ise %1-84 arasında değiştiği (Thomason ve ark 1996), bunun ortalama %50 olduğu belirtilmektedir (Seymour ve Heasman 1988). Bu ilaca bağlı dişeti büyümeleri her iki cinsiyeti etkilemekte ve cinsiyetler arasında önemli bir fark bulunmamaktadır. Yazarların bir kısmı, dişeti büyümelerinin genç yaşlarda daha sık görüldüğünü öne sürerken (İlgenli ve ark 1999), diğerleri bunun yaşla ilgisi olmadığını savunmaktadır (Dahlof 1993). Dişeti büyümelerinin lokalizasyonu ve büyüklüğü değişkenlik gösterir. Vestibül yüzeylerde daha yaygın olarak görülmektedir. Klinik tablo, idiopatik fibromatosisten biraz farklıdır. Papiller bölge daha sık, marginal bölge ise daha az etkilenmektedir. Şiddetli vakalarda diş kronunun tamamen örtüldüğü görülmektedir (Seymour 1992).

Dfh'ne bağlı dişeti büyümesi hakkında ileri sürülmüş birçok teori olmasına rağmen dişeti büyümesinin biyolojik mekanizması tam olarak bilinememektedir. İlaç alımının başlamasıyla beraber sağlanacak iyi bir ağız hijyeninin dişeti büyümesini önleyeceği, yazarların çoğu tarafından kabul edilmektedir (Ingle ve ark 1999). Fakat iyi ağız hijyenine karşın dişeti büyümesi yine de oluşabilmektedir. Bununla birlikte bakteri plağı, taşkın dolgu, kötü yapılmış restorasyonlar, ağızdan solunum gibi lokal irritanlar dişeti büyümesi olasılığını arttırmaktadır. Smith ve ark (1983), Dfh'na bağlı dişeti büyümesi ile marginal plaktaki mikroorganizmalar arasındaki ilişkiyi araştırmışlar, büyümenin şiddetli olduğu vestibül yüzeyler ile daha az şiddetli olduğu palatinal bölgeler arasında mikroorganizmalar ve oranlarının benzer olduğunu saptamışlardır. Mariotti (1993), Dfh'nin bağ dokusunu uyarmasına rağmen dişetinden

başka bir dokuda büyüme oluşturmadığını ve dişetindeki Dfh konsantrasyonunun dişeti büyümesi üzerine etkisi olmadığını bildirmiştir. Ayrıca, Dfh'nin fibroblastların mitojenik aktivitesini, kollagen liflerin oluşumunu arttırdığını, kollagenaz enzimini etkilediğini, serum folik asit seviyesini düşürdüğünü ve dolayısı ile bu şekilde dişeti büyümesi oluşturduğunu belirtmiştir.

Dahllof ve ark (1986), fenitoin kullanımına bağlı gelişen dişeti büyümelerini araştırdıkları çalışmalarında, inceledikleri dişeti örneklerinde, uzun rete-peg oluşumu ve hafif hiperkeratozis ile orta derecede epitelyal hiperplazi olduğunu, alttaki stromanın, yoğun kollajen lif gruplarından oluştuğunu ve nadiren bir miktar kronik enflamatuar hücrelerin bulunduğunu belirtmişlerdir.

1.3.2. Kalsiyum Kanal Blokerleri

İlaç alımına bağlı olarak gelişen dişeti büyümeleri son yıllarda bazı ilaçlarla yeniden önemli hale gelmiştir. Günümüzde kalp ve damar hastalıkları dünya nüfusunun büyük bir kısmını tehdit etmeye devam etmektedir. Bu alanda nifedipine, oldukça yakın bir tarihte angina pectoris ve ventriküler aritmilerin tedavisinde kullanılmaya başlanan ve popülaritesi gittikçe artan bir ilaçtır. Ancak ilacın kullanılmaya başlanılmasından bir süre sonra Dfh kullanımında olduğu gibi dişetlerinde büyümeye yol açtığı saptanmıştır. Nery ve ark (1995), ilacın ilk kullanılmasından 1-2 ay sonra dişeti büyümesinin başladığını bildirirken, Barack ve ark (1987), dişetindeki ilk değişimlerin 4 ay sonra görüldüğünü rapor etmişlerdir. Nifedipine bağlı dişeti büyümesi, Dfh'e bağlı dişeti büyümesinde olduğu gibi ağzın dişsiz bölgelerinde görülmemekte ve kötü ağız hijyeni dişeti büyümesinin şiddetini arttırmaktadır (Barclay ve ark 1992). Nishikawa ve ark (1991), yaptıkları histolojik bir çalışmada, ışık mikroskobunda nifedipine ile Dfh'e bağlı dişeti büyümelerini karşılaştırmışlar, ikisi arasında benzerlikler bulunduğunu, çok sayıda fibroblast ve kollagen demetleri görüldüğünü bildirmişlerdir.

1.3.3. İmmünosupresanlar

Siklosporin A

Son yıllarda ilaç alımına bağlı olarak gelişen bir diğer dişeti büyümesi de siklosporin-A (CsA) kullanımı ile oluşmaktadır. CsA, Borel tarafından İsviçre'de Sandoz laboratuarlarında üretilmiş ve 1977 yılında tanıtılmıştır (Borel 1981). Klinikte 1978'den bu yana;

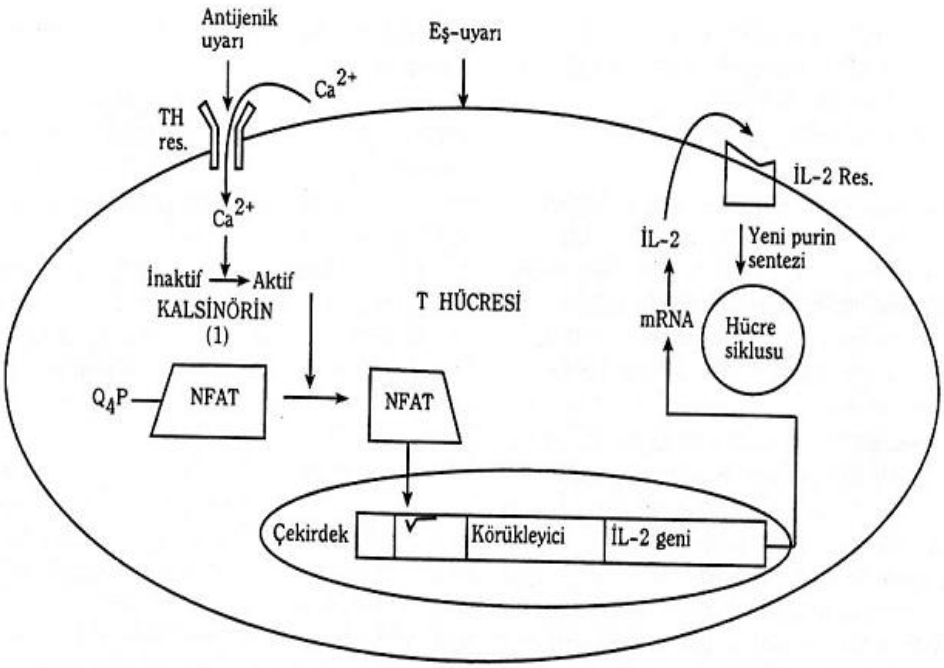
1- Böbrek, kemik iliği, karaciğer, kalp ve diğer organlarda yapılan allogreftlerin red reaksiyonların önlenmesi,

2. Kemik iliği naklinden sonra ortaya çıkan 'Greft Versus Host Reaction'ın önlenmesi veya oluşmuşsa tedavisi,

3. Behçet hastalığı, Tip I diabetus mellitus, AIDS, Sistemik lupus eritematozus, Graves hastalığı ve buna bağlı gelişen oftalmopati, Myasthenia gravis, Multiple Sclerosis, Uveit, sedef hastalığı, otoimmun tipteki aplastik anemi, Crohn hastalığı, pemfigus, Freund Adjuvans Arthritis ve alerjik ensefalomyletis gibi otoimmün hastalıkların tedavisi olmak üzere başlıca üç grup endikasyonu bulunmaktadır.

Bağışıklık sistemini baskılayıcı ilaçların çoğu, CD4 tipi T lenfositlerin aracılığı ile oluşturulan red reaksiyonunun, otoimmünite gelişmesine yol açan hastalıkların (romatoid artrit, sistemik lupus eritamatozis gibi), psöriyazis ve atopik dermatitin tedavisinde kullanılır. Bu ilaçlar; akut allogreft reddi reaksiyonunu güçlü bir şekilde önlerler. Bu yüzden organ transplantasyonunda başarı oranı ileri derece artmış ve bu tür girişimin son 30 yıl içinde rutin hale gelmesine olanak sağlamışlardır. Ancak geç gelişen kronik red reaksiyonu üzerindeki etkinlikleri düşüktür (Kayaalp 2000). Red reaksiyonunun önlenmesinde kullanılan ilaçların temel etki yeri CD4 tipi T lenfositlerdir. Bu hücrelerde antijenik uyarının eş-uyarı ile birlikte başlattıkları sinyalleme basamakları ve CsA'nın etki yeri şekil 1.1'de gösterilmiştir.

CsA; tolypocladium inflatum gams adlı mantardan elde edilen 11 aminoasitli, siklik bir polipeptitdir (Wenger 1988). Bu mantar 24^0C sıcaklıkta maya-malt agarda üretilip ve bir dizi kültür işleminden sonra CsA elde edilir. CsA; suda çözünmez, fakat birçok organik çözücüde ve lipitlerde oldukça fazla çözünme özelliği vardır (Borel 1986).



Şekil 1.1: CD4 tipi T hücresinin sunulan antijenle ve eş uyarı ile uyarılması ve sinyalleme basamakları. IL-2:interlökin-2; NFAT: aktive edilmiş T hücresi nükleer faktörü; TH Res.: T hücresi reseptörü; IL-2 Res.: IL-2 reseptörü. 1) Siklosporin'in etki yeri (Kayaalp 2000)

CsA, mide-barsak kanalından kısmen absorbe edilir. Bu nedenle ağızdan alınabilir; fakat biyoyararlanımı az ve fazla değişkendir (Kayaalp 2000). CsA büyük oranda ince bağırsaktan emilir, emilim oranı %4-26 arasında değişir. Kana geçen CsA %70 oranında hücrelere (bunun %80'ini eritrositler oluşturur), %30 oranında plazma proteinlerine bağlanır (Borel 1986). Alınan yiyeceklere, diğer ilaçlara ve hatta ilacın veriliş saatlerine göre, emilim oranı değişir. Bu yüzden vücut ağırlıklarına göre belirlenen dozlarda, CsA alan hastaların kan konsantrasyonlarında, bireysel farklılıklar ortaya çıkabilir (Bennett 1990). CsA, plazma proteinleri içinde, albümine düşük oranda bağlanırken özellikle HDL (yüksek densiteli lipoprotein) ve LDL (düşük densiteli lipoprotein)'den oluşan lipoproteinlere yüksek oranlarda bağlanır (Borel 1986). İlaç alındıktan 2-4 saat sonra kandaki konsantrasyonu pik seviyeye ulaşır. Dokularda dağılımı LDL reseptörlerinin dağılımına benzerlik gösterir. Dolayısı ile CsA metabolitleri, karaciğer, endokrin bezler, böbrekler ve yağ dokusu hücrelerinde daha çok, barsak ve beyinde çok az bulunur (Wang 1995).

CsA'nın %99'u karaciğerde metabolize edilir. Burada karma fonksiyonlu oksidazlar (özellikle CYP3A4) tarafından metabolize edilmek suretiyle elimine

edilir; metabolitleri büyük ölçüde safra ile itrah edilir (Mihatsch 1988). Metabolik reaksiyonlar hidroksilasyon ve N-demetilasyon olup bunların sonucunda CsA; en önemlileri M1, M17 ve M21 olmak üzere yirmiden fazla metabolite dönüşür (Vickers 1992). CsA'nın hemen hemen tamamı metabolize olur (Bennett 1986). Metabolitleri CsA kadar bağışıklık sistemini baskılayıcı etkiye sahip değilken böbrek morfolojisi ve işlevi üzerinde de herhangi bir değişiklik oluşturmazlar (Maurer 1985). Eliminasyon hızı bireyler arasında değişkenlik gösterirken, eliminasyon yarılanma ömrü uzundur (ortalama 27 saat kadar). İnsanlarda; hastalığın tipine, ilacın alım süresi ve yoluna bağlı olarak bazı farklılıklar yapılmakla birlikte, genel olarak klinikte kullanılan tedavi dozları 5-25 mg/kg/gün arasında değişmektedir (Borel 1986).

CsA, organ nakillerinden sonra genellikle 10-20 mg/kg dozda oral yoldan verilir, serum seviyesi 100-400 ng/ml'dir. Eğer intravenöz olarak kullanılacaksa oral dozun yaklaşık 1/3'ü oranında uygulanır. CsA'nın kan ve serum seviyesi Radioimmunoassay (RIA) ya da High Performance Liquid Chromotography (HPLC) metodu ile ölçülmektedir. Bu yöntemlerle ölçülmesi ilacın etkili, fakat toksik olmayan uygun dozunun tayin edilmesinde büyük bir güven sağlar (Vickers 1992).

CsA ile etkileşen çok sayıda ilaç bulunmaktadır. Bunlardan bir kısmı CsA'nın hepatik metabolizmasını inhibe ederek kan seviyesinin yükselmesine ve dolayısıyla yan etkilerinin artmasına neden olur. Diğer bir kısım ilaçlar ise hepatik sitokrom p450 sisteminin işlevini ve kan seviyesini etkilemeksizin böbrek fonksiyonunu bastırır. Sitokrom p450 enzim baskılayıcısı olan ilaçlar (oral kontraseptifler, metil prednizolon, ketokanazol, eritromisin vs); CsA metabolizmasını yavaşlatarak CsA'nın kan düzeyini yükseltirler. Buna karşın Sitokrom p450 enzim aktivatörleri (rifampisin, fenitoin, fenobarbital, karbamazepin); CsA metabolizmasını hızlandırarak, CsA kan düzeyinin düşmesine neden olurlar (Esposito 1990). CsA, günümüzde bağışıklık sistemini baskılayıcı ilaç olarak kullanılan, etkinliği en yüksek olan ilaçtır. Antijenin tanınmasını izleyen otoimmün cevabın erken basamaklarını önleyerek bağışıklık sistemini baskılar (Borel 1986).

CsA, CD4 tipi T lenfositlerinde, T lenfositi reseptörünün antijenle uyarılması ile başlatılan sinyalleme basamaklarından birini oluşturan ve Ca^{++}'a bağımlı bir enzim olan kalsinörin'i selektif bir şekilde baskılar (Şekil 1.1).

CsA'nın bağışıklık sistemini baskılayıcı etkisinin üç önemli özelliği vardır:

-Baskılayıcı T lenfositlerin işlevini bozmaz; CD4 tipi T lenfositleri tarafından yapılan ve baskılayıcı hücreleri teşvik eden lenfokinlerin yapımını etkilemez.

-Benzeri diğer ilaçların aksine myelosupresyon yapmaz.

-Doğal öldürücü lenfositleri (Natural killer) baskılamaz.

CsA'nın yan etkileri Şekil 1.2'de gösterilmiştir.

Böbrek	BUN (kan üre azotu), ürik asit ve kreatinin yükselmesi, glomerüler filtrasyon oranının ve serum Mg'un düşmesi
Kardiyovasküler	Hipertansiyon, hiperlipidemi
Mukokutanöz	Hipertirikozis, gingival hiperplazi
Hematolojik	Normositik, normokrom anemi
Bünyesel	Yorgunluk, kilo kaybı
Sinir sistemi	Ensefalit, tremor
Diğer	El ve ayaklarda yanma. İlaç etkileşimleri (azoller, makrolit antibiyotikler, hormonal kontraseptifler, Ca^{++}antagonistleri, antiepileptikler, sülfonlar)

Şekil 1.2: Siklosporinin yan etkileri

CsA'nın immunosüpressif etki mekanizması

Konağın, kendisinden farklı yapıya sahip herhangi bir maddeyi "yabancı" olarak algılaması ve ondan bir an önce kurtulmak için çeşitli savunma mekanizmalarını harekete geçirmesi, bağışıklık/immünite şeklinde tanımlanır. Bağışıklık sistemi; organizmayı yabancı etkenlerden korumak ve bunları çeşitli yollardan kendinden uzaklaştırmak görevini üstlenmiştir. İmmün sistem tarafından spesifik olarak tanınabilen bütün mokelüllere antijen adı verilir. 19 yy. sonuna kadar antijen, antikor sentezini başlatan madde şeklinde tanımlanmıştır. Ancak bu eksik bir tanımlama olduğu için, günümüzde antijen deyimi, immün yanıtın ürünleri olan antikorlar veya T lenfosit reseptörleri ile özgül olarak reaksiyona giren, bunlarla birleşebilen maddeleri tanımlamak için kullanılır. Bu madde bakteri veya virüs tipinde bir mikroorganizma olabileceği gibi, transfüzyon sonucu alınan kan hücreleri ya da transplante edilen bir organın hücreleri de olabilir. Organizmaya yabancı bir hücre, bazı ilaçlar veya tedavi amaçlı kullanılan hayvan kökenli serumlar da antijen özelliği gösterebilir. Bazı özel durumlarda ise vücudun kendi antijenlerine karşı bir

yanıt oluşur, buna da otoimmünite denilir. Antijeni tanımada sorumlu olan hücre lenfosittir. Sadece lenfositlerin, antijenleri spesifik olarak tanıma özelliği vardır, bu hücreler antijenlere özgül reseptörleri sentezleyerek, yüzeylerinde taşırlar. Lenfositler, B ve T lenfositleri şeklinde iki gruba ayrılırlar (Paul 1984).

İmmün yanıt iki farklı şekilde gerçekleşir:

a) Hümoral bağışıklık: Oluşan antikorlar dolaşımda bulunur ve tanıdıkları antijen ile spesifik olarak birleşirler. Bu birleşme gerçekleşince, antijenin yıkımına yola açacak bir dizi reaksiyon başlar. Hümoral immüniteden B lenfositleri sorumlu olup antikorları oluşturmaktadırlar.

b) Hücresel bağışıklık: Burada bazı hücrelerin antijenlere direkt olarak saldırmaları söz konusudur. Hücresel bağışıklıktan T lenfositleri sorumludur (Roitt 1996).

Lenfositler, kemik iliğindeki kök hücrelerinden oluşurlar ve timus gibi santral lenfoid organlara gelip olgunlaşma dönemlerini geçirirler. Daha sonra lenf düğümleri, dalak gibi perifer lenfoid organlara yerleşip antijenler ile karşılaşmaya hazır hale gelirler. B lenfositleri uyarıldıklarında antikorları, T lenfositleri uyarıldıklarında ise, vücutta önemli biyolojik etkilere sahip olan ve sitokin (lenfokin ya da interlökin) adı verilen mediatörleri sentezlerler. T lenfositleri tüm olgunlaşma evrelerinde, yüzeylerindeki antijenik yapılarda farklılaşma olur. Bu farklılaşma sırasında, hücreler, onları karakterize eden glikoprotein yapısında bir takım yüzey antijenleri (reseptörleri) kazanırlar, bunlara CD antijenleri denir. Taşıdıkları bu CD moleküllere göre de farklı şekilde tiplere ayrılırlar. CD4 molekülünü taşıyan lenfositlere Th (helper/yardımcı) lenfositler, CD8 molekülünü taşıyanlara ise Ts (supresor) lenfositleri denilmektedir. Genel olarak bir antijene karşı immün yanıtın oluşumu, antijenin Th lenfositi tarafından tanınması ile başlar, uyarılan Th hücreleri IL-2'yi sentezlerler, daha sonra Ts lenfositleri uyarılır, bunlar da farklı sitokinleri sentezleyerek direkt olarak antijeni yıkıma uğratırlar (Paul 1984).

CsA, CD4 tipi T lenfositlerinde, T lenfositi reseptörünün antijenle uyarılması ile başlatılan sinyalleme basamaklarından birini oluşturan ve Ca^{++} bağımlı bir enzim olan kalsinörini selektif bir şekilde inhibe eder. Bunun için CsA'nın önce sitoplazmik bir reseptör olan siklofiline bağlanması gerekir. Kalsinörin bir defosfataz enzimi olup, NFAT (aktive T hücrelerinin nükleer faktörü) adlı ve inaktif durumda sitoplazmada bulunan faktörden fosfat gruplarını koparır ve NFAT'ın etki yeri olan

hücre çekirdeğine girmesini (translokasyonu) sağlar. NFAT, çekirdekte IL-2 geninin körükleyici bölgesindeki bağlanma yerine bağlanarak gen transkripsiyonunu ve böylece IL-2 üretimini artırır. CsA'nın kalsinörine bağlanmasıyla başlayan olaylar zinciri; IL-2 üretimini engeller. Bu da antijenik uyarının, IL-2 aracılığı ile T lenfositlerinde oluşan etkinlik ve proliferasyon yapma mekanizmasını durdurur. Siklosporin aynı zamanda IL-3, IL-4, IL-6, Tümör Nekrotizan Faktör (TNF) gibi sitokinler üzerine de inhibitör etkisi vardır (Bunjes 1991).

CsA; perifer kan damarlarına ve kemik iliğine zarar vermeksizin reversibl olarak hem primer hem de sekonder cevapları değişik şiddetlerde engellemektedir. CsA, T hücrelerine karşı antikor yapımını da engellemektedir, ancak monositlerin, granülositlerin, lökositlerin migrasyonunu inhibe etmemekte ve makrofajların fagosit fonksiyonuna ya da plazminojen aktivatörüne, lizozomal enzimlerin sekresyonuna etki göstermemektedir. Yapılan deneylerin sonuçları CsA'nın immunosupresif etkisinin üç farklı yolla ortaya çıktığını göstermiştir.

1. Makrofajların aktivasyonunu inhibe ederek IL-1'in sentezine engel olur.

2. T yardımcı hücrelerinin yüzeyindeki IL-1 reseptörlerinin oluşmasını ve IL-2 sentezini önler.

3. Farklılaşmamış T hücrelerindeki IL-2 reseptörlerinin meydana gelmesini önleyerek, daha fazla T yardımcı, T baskılayıcı ve T öldürücü hücrelerinin oluşmasını engeller (Borel 1990).

Yumuşak doku ve kemik iyileşmesi üzerine etkileri

Yapılan deneysel çalışmalarda, CsA kullanımının, kemik dokusunda osteoporoza, osteopeniye, mineral metabolizmasının bozulmasına, kemik remodelasyonun artmasına ve trabeküler kemik kayıplarına neden olduğu bildirilmiştir (Shen 2001). Organ transplantasyonu yapılan hastalarda ameliyat sonrası CsA kullanımına bağlı olarak osteoporozisin sık görüldüğü ve bunun kemik fraktürlerinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Duarte 2001). CsA'nın T lenfositleri ve IL-1, IL-3, IL-6 ve TNF gibi farklı sitokinlere etki eden, güçlü bir immunosupresif ajan olduğu bilinmektedir. Bu sitokinlerin kemik dokusunun mineral metabolizmasında da rol oynadıkları bildirilmiştir. Bunun için CsA'nın kemik dokusu üzerine de etkisi olabileceği düşünülmüştür (Fu 2001). Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda, CsA'nın kemik hücreleri üzerine farklı etkileri olabileceği

görülmüştür. İn vitro çalışmalarda (Yamasaki ve ark 1987), osteoklast sayısını azaltıp, rezorbsiyonu inhibe ettiği, in vivo çalışmalarda ise (Savage ve ark 1987), osteoklast ve rezorbsiyonu stimule ettiği, osteoblastları baskıladığı, kemik yapım alanlarına mineral aktarımını yavaşlattığı gösterilmiştir. Bu zıt etkilerin, kemik remodelasyonunda rol alan IL-1, TNF gibi komponentlerinin birçoğunun eksikliğine bağlı olduğu düşünülmektedir (Cvetkovic 1994).

CsA'nın, yumuşak doku yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin, değişik doku ve organlarda, farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Deneysel çalışmalarda, CsA'nın, çekim yarasında granulasyon dokusu oluşumunu inhibe ettiği ve iyileşmeyi olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Buna karşılık, deri ve kas insizyonlarındaki primer iyileşmeye inhibitör etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Nemlander 1983).

Takrolimus

Takrolimus (Tak) ilk kez 1984 yılında Streptomyces tsukabaensis adlı toprak mantarından üretilmiş bir makrolit immunosupresandır. Kalsinörin inhibitörleri (CsA ve Tak), hücre sitoplazmasında bulunan immünofilin adlı proteinlere bağlanarak hücresel etkilerini gösterirler. CsA'nın siklofiline (CP), takrolimusun ise FK-bağlayıcı proteinlere (FKBPs) bağlanması kalsinörine afinitesini artırır. Tak/FKBP veya CsA/CP kompleksi kalsinörine bağlanır ve kalsinörini inhibe eder (Cardenas ve ark 1994). Kalsinörin, kalsiyuma bağımlı bir fosfatazdır. Kalsinörin, antijenin T-hücresi tarafından tanınmasını takiben meydana gelen kalsiyum bağımlı sinyalde anahtar rolü oynamaktadır (Morris 1997). Bu olay zinciri, IL- 2 üretimini engelleyerek antijenik uyarının IL- 2 aracılığı ile T lenfositlerde etkinlik artması ve proliferasyon yapmasını önler.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada takrolimusun NF-kappaB üzerinden direkt düzenleyici etki ile keratinositlerden TNF-α sekresyonunu engellediği gösterilmiştir (Lan 2005). Bu immünolojik etkilerinden dolayı topikal takrolimus dermatolojide atopik dermatit, psoriasis, pyoderma gangrenosum, alopesi areata, vitiligo ve eroziv liken planus gibi hastalıklarda denenmiş ve başarılı sonuçlar alınmıştır (Gupta 2002).

Takrolimus, sitokin sentezini CD4 lenfosit düzeyinde inhibe ederek hücresel immünitede şu şekilde rol oynar:

1) Organ reddinden sorumlu olan sitotoksik T- lenfositlerinin oluşumunu inhibe ederek,

2) IL-1, IL-2 reseptörleri ve γ-interferon gibi lenfokinlerin üretimini inhibe ederek T-hücresi aktivasyonunu baskılayarak,

3) B hücre aktivasyonunu engelleyerek ve TNF-α gen transkripsiyonunu bloke ederek immün yanıtın ilk basamaklarında etkisini gösterir (Bader ve ark 1998).

Takrolimus; sistemik olarak psoriasis, pyoderma gangrenosum, graft versus host hastalığı, Behçet hastalığı, el allogrefti, Kaposi sarkomu gibi hastalıklarda etkili bulunmuştur. Sistemik uygulamadaki başlıca yan etkiler nefrotoksisite ve hipertansiyondur. Bunun yanında nörotoksik etkiler, enfeksiyon ve malignitelere yatkınlık ve bulantı, kusma, anoreksi gibi gastrointestinal yan etkilerde görülebilir. Takrolimusun moleküler ağırlığı (822Da) CsA'ya (1202Da) göre daha azdır. Ayrıca yapılan in vitro çalışmalarda topikal kullanımda CsA'ya göre 10-100 kat daha güçlü bulunmuştur. Topikal uygulamalarda derinin fiziksel durumu ile ilişkili olarak, deri belirtilerinde iyileşme arttıkça emilim azalır. Minimal emilime rağmen normal deriye uygulandığında ölçülebilir kan düzeyi bugüne değin saptanamamıştır (Nasr 2000). Kandaki yarılanma ömrü yaklaşık 40 saattir. İlaç karaciğerde sitokrom P-450 III A enzim sistemi ile metabolize olur. CsA ile etkileşimi olan ilaçların (ketokanozol, eritromisin, kortikosteroidler, fenitoin, fenobarbital vb) takrolimus ile de etkileşimi vardır. İlaçlar, etkileşimi olan başka bir ilaç ile kullanıldığında doz ayarlaması gerekir ve kan konsantrasyonu izlenmelidir. CsA ve takrolimus nefrotoksik etkileri nedeniyle birlikte verilmemelidir ve takrolimus tedavisine siklosporinin son dozundan 24 saat sonra başlanmalıdır.

Takrolimusun atopik dermatitte kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır. Yapılan çalışmalarda takrolimusun topikal kullanımında sistemik yan etki görülmemiştir. Lokal yan etkileri arasında uygulama bölgesinde yanma, kaşıntı, lokal enfeksiyonlar, grip benzeri semptomlar, başağrısı, hiperestezi, akneiform erüpsiyonlar, sinüzit, miyalji ve kist oluşumu görülebilir (Gupta 2002). Kollajen sentezini etkilemediği için topikal steroid kullanımı ile sık görülen bir yan etki olan atrofi topikal takrolimus uygulaması ile görülmez (Reitamo 1998).

İmmunosüpressif etki mekanizması

Takrolimusun immunsüpresif etkisini nasıl gösterdiği kesin olarak bilinmemekle birlikte, kalsinörin inhibisyonu yaparak, antijen spesifik T hücre aktivasyonunu ve başta IL-2 olmak üzere IL-4, IL-5 gibi enflamatuar sitokinlerin salınımını inhibe ettiği düşünülmektedir. Kalsinörin, hedef proteinlerden fosfat gruplarını ayıran, kalsiyum aktivasyonu yapan bir enzimdir. Sitokinlerin transkripsiyonel aktivasyonunda temel rol oynamaktadır ve immünsüpresyon yapmak için iyi bir hedeftir. Takrolimus, hücre membranını geçer ve takrolimus bağlayıcı proteine bağlanır. Takrolimus bağlayıcı protein, T lenfositlerde yaygın olarak bulunan sitozolik bir proteindir. Takrolimus ve bağlayıcı proteinin oluşturduğu kompleks, fosfattan aktif bölgelerin uzağında kalsinörini inhibe eder, kalsinörin-transkripsiyon faktör etkileşimine fiziksel olarak engel olur ve defosforilizasyonu önler. Sonuç olarak IL-2 ve diğer sitokinlerin sentezi ve salınımı inhibe edilir (Nghiem2001). Takrolimusun IL-2 sentezini azaltma gücü siklosporinden 1 ile 100 kat daha fazladır (Cather 2001). İlaç topikal uygulandığında T hücreleri, mast hücreleri, bazofiller ve dentritik hücrelere etki eder. Topikal steroidlerle oluşan deri atrofisi, kalsinörinin kollajen sentezinde rol oynamamasından dolayı takrolimus kullanımı ile oluşmaz (Bekersky 2001).

1.4. İlaca Bağlı Dişeti Büyümelerinin Histopatolojik Özellikleri

Dişeti büyümelerinden söz ederken dişeti hiperplazisi terimini kullanmanın doğru olmadığı, çünkü dişeti büyümesinin hücre sayısındaki artış sonucu değil, ekstrasellüler matriks hacmindeki artış sonucu oluştuğu görüşü bugün için kabul edilmektedir (Carranza, 2006). Brown ve ark (1991), ilaca bağlı dişeti büyümesinin non-kollagen matriks birikimi ve bağ dokusundaki artış sonucu oluştuğunu bildirmişlerdir. Tüm ilaç kategorilerinde lezyonun histopatolojisi benzerdir. Büyüme dişeti bağ dokusunda ve epitelde artış şeklindedir. Ekstrasellüler matriks proteinlerinin ve ana substansın aşırı birikimi ile karakterizedir.

Dişeti kesitlerini ışık mikroskop düzeyinde histopatolojik olarak inceleyen araştırmacılar, dişeti boyutundaki artışın bağ dokusundaki artıştan kaynaklandığını saptamışlardır (Seymour ve ark 1999). Dişeti kesitlerinde epitelde akantoz ve parakeratoz ile dişeti bağ dokusunda oryantasyon içinde bol kollagen lif demetlerini gözlemlemişlerdir (Carranza 2006).

Elektron mikroskop çalışmaları artmış bağ dokusunun büyük oranda kollagen matriks ve ana madde içerdiğini göstermiştir. Oryantasyon içinde olmayan kollagen fibriller yoğun sıralanmıştır. Retepeglerin bağ doku içine yaptığı uzantılar büyüme göstermektedir. Oksitalan fibrillerin ise epitelde ve enflamasyon alanında sınırlı sayıda oldukları görülmüştür. Siklosporin tedavisi gören hastaların dişeti epitelinde, ışık mikroskobu çalışmalarında toulidin mavisi ile boyanmış kesitlerde mast hücrelerine, scanning elektron mikroskop (SEM) çalışmalarında ise iğne benzeri kristallere rastlanılmıştır. Bu hastalarda dişeti SEM'de düzensiz yüzeyli, akantotik oluşumlar göstermiştir. Bunun yanında ilaca bağlı tekrarlayan büyümelerin granulasyon dokusu tarzında gözlendiği bildirilmiştir. Bu dokunun birçok genç kapiller damar, fibroblast ve düzensiz dizilmiş fibrillerle birlikte, çok az sayıda lenfositlerden oluştuğu belirtilmiştir (Carranza 2006).

Nurmenniemi ve ark (2002) nifedipin ve immünsüpresan ilaç kullanımına bağlı dişeti büyümesi gösteren kişilerden alınan dişeti örneklerinin bazal hücre tabakasındaki mitotik aktiviteyi kıyaslamışlardır. Sonuçta her iki ilacın indüklediği dişeti büyümesini özellikle oral epitel kalınlığındaki artış ve artmış mitotik aktivite ile ilişkili bulmuşlardır.

1.5. İlaca Bağlı Dişeti Büyümesinin Risk Faktörleri

Seymour ve ark. (1996), dişeti büyümesinin etiyolojisinde yaş, periodontal faktörler, plağın indüklediği immunolojik ve enflamatuar değişiklikler, ilaca bağlı dişeti bağ dokusunun hemostazındaki değişiklikler, büyüme faktörleri, ilaçların farmakodinamiği, kombine ilaç kullanımı ve genetik özelliklerin rolü olabileceğini bildirmişlerdir.

1.5.1. Yaş Ve Diğer Demografik Değişkenler

Özellikle fenitoin ve CsA kullanan bireylerde yaşın önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (Daley ve ark 1986). Fenitoine bağlı dişeti büyümeleriyle ilgili yapılan çalışmalar, özellikle gençlerin risk altında olduğunu göstermiştir (Seymour ve ark. 2000). Kalsiyum kanal blokörleri genelde orta ve ileri yaştaki hastalarda kullanıldığı için, yaş, bu hastalarda üzerinde durulan bir risk faktörü olarak görülmemektedir (Seymour ve ark 2000). Bu görüşü, son yıllarda kalsiyum kanal blokörü kullanan 800 hastada yapılan ve yaşın anlamlı bir risk faktörü olarak tanımlanmadığı bir çalışma desteklemektedir (Ellis ve ark 1999). Fakat, CsA ve

kalsiyum kanal blokörünü kombine kullanan hastalarda yaş risk faktörü olarak tanımlanmıştır (Thomason ve ark 1997).

CsA'ya bağlı dişeti büyümeleri için yaşın bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (Rateit ve ark 1983, Daley ve ark. 1986, Khoori ve ark 2003). Bu gözlemler hayvan çalışmalarıyla desteklenmiştir (Kitamura ve ark 1990, Morisaki ve ark 1993). Diğer çalışmalarda özellikle çocuk organ transplant hastalarında dişeti büyümesi üzerinde durulmuştur (Gillett ve ark. 1986, Matsson ve ark. 1985, Bimstein ve ark. 1999, Radwan ve ark. 2003). Bu çalışmalara katılan hastaların hemen hemen hepsinde dişetinde değişiklikleri saptanmış ve klinik olarak anlamlı dişeti büyümesi görülen çocuk sayısı, erişkinlere oranla daha fazla (%52) bulunmuştur (Seymour ve ark. 2000).

Bu üç ilaç grubunun neden olduğu dişeti büyüme prevalansındaki farklılıklar, ilaçların hedeflediği farklı yaş gruplarını yansıtır; fenitoin daha çok genç yaştaki hastaları, kalsiyum kanal blokörleri orta ve ileri yaştaki hastaları, CsA ise geniş bir yaş aralığındaki hastaları hedefler (Hassell ve ark. 1998). Özellikle CsA için yaşın risk faktörü olduğunu destekleyen kanıtlar artık inandırıcıdır. Bu ilişki, dolaşımdaki androjenler ve fibroblastlar arasındaki etkileşimle açıklanabilir. Gingival fibroblastlar, testesteronu 5α-7 dihidrotestesterona kolayca metabolize edebilir. Gingival fibroblastların testesteronu metabolize etmesi, ortama fenitoin eklendiği zaman artmaktadır (Soory ve ark 2002). CsA ve nifedipine bağlı dişeti büyümelerinden elde edilen kesitlerde androjen metabolizmasında benzer artış görülmektedir (Sinha ve Suchak 1990). Adolesan ve genç erişkinlerde dolaşımdaki androjen düzeyi daha fazladır ve androjen metabolitleri gingival fibroblastların subpopulasyonlarına etki edebilir. Bu yolla kollajen sentezinde artışa ve/veya kollajenaz aktivitesinde azalmaya neden olabilir (Seymour ve ark. 2000).

1.5.2. Plağın İndüklediği Enflamatuar Ve İmmunolojik Değişkenlerin Rolü

Başlıca enflamatuar sitokinler IL-1, IL-2, lökotrien-B4 (membran lipid mediatörü- LTB4), platelet aktivasyon faktörü (PAF), IL1-α, IL-6, IL-8, TNF-α olarak sayılabilir. Sitokinler enflamasyon durumunda temel olarak lenfositler ve makrofajlar tarafından salınmaktadır. Makrofajlar çeşitli maddeler salgılar, bunlar da fibroblast fonksiyonlarını düzenlemede rol oynar. Monosit ve T hücrelerinin başlıca ürünü IL-1'dir. IL-1, fibroblast profilerasyonunu ve kollagen sentezinin stimulusunu sağlar.

Heijl ve Sundin (1999), ilaca bağlı dişeti büyümesinin ilaçların sitokin sentezini-arttırıcı etkisi sonucu oluştuğunu belirtmişlerdir. Hallmon ve Rossmann (1999)'da, plağın indüklediği dişeti enflamasyonunun ilaca bağlı dişeti büyümesinde rol oynadığını ortaya koymuşlardır.

LTB4, araşidonik asit 5 lipooksijenaz enzim yolundan elde edilir. LTB4, nötrofiller, makrofajlar ve eozinofiller tarafından üretilir. LTB4, nötrofil kemotaksisini ve endotelyal hücrelere adezyonu sağlar. Lizozomal enzimlerin açığa çıkmasını, yara iyileşmesi ve bağ doku tamirindeki fibroblast aktivitesini düzenler ve vasküler permeabiliteyi arttırır. Ayrıca LTB4, T hücreleri tarafından IL-2 üretimini uyararak ve monositler tarafından IL-1 sentezinin artmasına neden olarak lenfosit fonksiyonlarını yönetir. PAF, fibroblast aktivasyonunu uyarır ve profilerasyonu arttırır, monositler tarafından IL-1 üretimini aktive eder, T lenfositleri tarafından üretilen IL-2 sentezini inhibe eder (Denizot 1994). Emingil ve ark (2000), siklosporin kullanan böbrek nakil hastalarından, gingivitisli ve periodontal olarak sağlıklı bireylerden alınan dişeti oluğu sıvısı (DOS) örneklerinde LTB4 ve PAF seviyelerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda, siklosporin kullanımının, DOS'taki LTB4 ve PAF seviyeleri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Bunların varlığının nedeninin dişeti enflamasyonu olduğu düşünülmüştür.

IL-6, IL-8 ve TNF-α enflamasyonlu dişetinin DOS'unda bulunmuştur. TNF-α, IL-1β ile beraber sinerjik etki gösterir. IL-1β'nın endotelyal hücreleri uyararak enflamasyonlu dişetinde tamir edici mekanizmayı, fibroblast profilerasyonunu ve nötrofil kemotaksisini düzenlediği belirtilmiştir. IL-6'nın değişik sitokinleri inhibe ettiği ve bu sitokinlerin de fibroblast aktivitesini stimüle ettiği belirtilmiştir (Barnard 1990). Seymour ve ark. (1996), ilaç ve dişeti fibroblastları arasındaki etkileşimde enflamatuar mediatörlerin rol oynadığını belirtmişlerdir. James ve ark (1998), siklosporin kullanan hastalarda IL-6 ve transforme büyüme faktörü (TGF-β) seviyesinin artması ve γ-interferon seviyesindeki düşüşün fibroblastların kollagen sentezi yapmasını kolaylaştırabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Buduneli ve ark. (2003) siklosporine bağlı dişeti büyümesinin patogenezinde IL-15'in rolü olabileceğini bildirmişlerdir. IL-15'in bu rolünü siklosporin ile etkileşime girerek apoptosis ve enflamason olayında rol oynayarak gerçekleştirmiş olabileceğini belirtmişlerdir. Genco ve ark (1990) siklosporinin etkisini spesifik T lenfosit subpopulasyonunu baskılayarak IL-1, IL-2 ve lenfokin üretimine müdahale ederek gösterdiğini bildirmişlerdir. Dill ve ark. (1993), ilaca bağlı dişeti

büyümelerinin patogenezinde; fenitoinin, makrofajlardaki platelet derive büyüme faktörüne (PDGF) ait gen ekspresyonunu regüle ettiğini ve invitro ortamda IL-1 üretimini indüklediğini saptamışlardır. Weinzweig ve ark. (1999), kalsiyum kanal blokerleri ve dihidropiridinlerin hücre içine Ca^{+2} geçişini inhibe ederek T hücre proliferasyonu ve IL-2 üretimini inhibe ederek dişeti büyümesinde rol oynayabileceklerini bildirmişlerdir.

Atilla ve ark (1998), böbrek nakli sonrası siklosporin alan ve dişeti büyümesi oluşan ve bu ilacı kullanmayan sağlıklı ve gingivitisli bireylerin DOS'nda IL-1β, TNF-α, IL-6'nın düzeylerini incelemişlerdir. IL-1β ve IL-6 seviyelerini, siklosporine bağlı dişeti büyümesi gösteren enflamasyonlu alanlarda, ilaca bağlı dişeti büyümesi gösteren enflamasyonsuz alanlara göre daha fazla saptamışlardır. Bu çalışmada, siklosporin tedavisinin DOS'ndaki IL-1β ve IL-6'yı direkt olarak değiştirmediği, ancak dişeti enflamasyonunun DOS'ndaki IL-1β ve IL-6 seviyelerine önemli etkisinin olabileceği ileri sürülmüştür. Siklosporin kullanan hastaların DOS'ndaki IL-1β ve IL-6 seviyelerindeki değişimin, diğer faktörlerle birleştiğinde dişeti büyümesine neden olabileceği bildirmişlerdir.

Ruhl ve ark. (2004), ilaca bağlı dişeti büyümesi olan hastalarda protein, albümin, IL-1α, IL-6, IL-8, epidermal büyüme faktörü (EGF) seviyelerini total tükrükte araştırmışlardır. Bu çalışmada kontrol grubu ile dişeti büyümesi görülen grup kıyaslandığında, albümin ve IL-6 seviyelerinin önemli oranda farklı olduğu görülmüştür, buna rağmen tükrük proteinlerinin tümünde bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu çalışmaya göre, ilaca bağlı dişeti büyümesinde enflamatuar sitokin ve albüminlerin rol oynadığı belirtilmiştir.

Kalsiyum bağlayıcı proteinler olarak bilinen S100A8 ve S100A9, aynı zamanda myeloid ilişkili protein (MRP) 8 ve 14 olarak adlandırılır. Bu proteinler nötrofillerde bulunur ve enflamasyonun ilerlemesinde anahtar rol oynar. Yapılan bir çalışmada, sağlıklı dişeti ve siklosporine bağlı büyümüş dişetlerindeki S100A8/A9 varlığı değerlendirilmiştir. Siklosporin grubundan alınan örnekteki bağ dokusunda diğer gruba göre daha çok sayıda S100A8/A9 hücrelerinin olduğu görülmüştür. Bu hücrelerin, siklosporine bağlı dişeti büyümesi olan bölgelerde makrofaj ya da nötrofil aktivasyonunu sağlayarak enflamatuar olayda rol oynadığı düşünülmüştür (Eshelard ve ark 2002).

Cebeci ve ark (1998), böbrek nakli sonrası siklosporin kullanan ve dişeti büyümesi olan iki grup hastada (şiddetli dişeti büyümesi ve hafif şiddette dişeti

büyümesi gösteren) periferal kandaki lökosit dağılımını incelemişlerdir. Lenfosit subpopulasyonuna bağlı periodontal değişkenler (gingival indeks, sondalanan cep derinliği), doğal öldürücü hücreler ve monositler arasındaki olası ilişkileri değerlendirmişlerdir. İmmunolojik parametrelerden sadece CD2'nin, şiddetli dişeti büyümesi gözlenen hastalarda yüksek olduğu saptanmıştır. Klinik parametreler ve immunolojik değerler arasında bir ilişki bulunamamıştır. Bu çalışmada sadece T lenfosit mekanizmasının aktivasyonunun patogenezde rol oynayabileceği bildirilmiştir. Bulut ve ark (2002), doğal öldürücü hücreleri (CD57) siklosporine bağlı dişeti büyümesi olanların bağ dokusunda düşük sayıda bulmuşlardır. Doğal öldürücü hücrelerin düşük sayıda olmasının sonucunda siklosporinin dişeti bağ dokusunda proliferasyon aktivasyonunu indükleyebileceğini ileri sürmüşlerdir.

1.6. İlaca Bağlı Dişeti Büyümesinde Dişeti Bağdokusu Hemostazındaki Değişiklikler

Hücre-hücre veya hücre-ekstraselüler matriks etkileşimi biyolojik üretimde major rol oynar. İntegrinler membran reseptörlerinin arasında yer alan periselüler matriks reseptörleridir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, integrin reseptörlerinin ilaca bağlı dişeti büyümesinin gelişimi üzerinde etkisi hakkında sınırlı bilgi vardır. Periodontal hastalıkta kollagen ve perivasküler ekstraselüler matriksin diğer komponentleri yıkıma uğrar. Bu komponentler integrin reseptörleri tarafından tanınıyor olabilir. Bu reseptörler hücre düzeyinde mevcut olunca, ekstraselüler matrikse etki eden birçok eksternal uyarıyı, hücresel morfolojiyi veya matriks metalloproteinazların üretimini düzenlerler (Bolcato-Bellemin 2003).

Literatürde, hastalarda ve deneysel hayvanlarda kullanılan farklı immünosüpresanların periodontal dokular üzerindeki etkilerini inceleyen çok sayıda çalışma vardır (Prabhu 2006, Seymour 2006). CsA'nın dişeti büyümesi yaptığı kabul edilmiş bir gerçektir, fakat henüz açığa çıkartılamamış olan patogenezini aydınlatmak amacıyla çalışmalar devam etmektedir. Aynı şekilde CsA'nın kemik üzerine osteoporotik etkisi bilinmektedir. Diğer bir immunosupresan olan takrolimus için ise, dişeti büyümesi hakkında yapılmış olan çalışmaların sonuçları tartışmalıdır. Buna benzer sonuçlar kemikteki etkisi için de geçerlidir. Çalışmamızın amacı, CsA ve takrolimusun gingival ve alveoler dokular üzerine etkisinin değerlendirilmesi ve farmakolojik değişkenlerin bu ilaçlara bağlı oluşan dişeti büyümeleri üzerindeki etkisinin belirlenmesidir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanları

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Akademisi ve Uygulama Merkezi Etik Kurulu'ndan (2008/35) onay almıştır. Çalışma aynı merkezden temin edilen 50 adet 4 aylık erişkin Sprague-Dawley cinsi ratlar üzerinde yürütüldü. Aynı merkezde; hayvanlar beşerli gruplar halinde ayrı ayrı kafeslere konularak, araştırma boyunca standart koşullar altında (oda sıcaklığı 20 ± 1°C, nem %50 ± 10, 12/12 aydınlık karanlık periyodunda), yem ve su kısıtlaması yapılmaksızın günlük bakıma alındılar. Deney hayvanlarından rastgele bir seçimle aşağıda belirtilen gruplar oluşturuldu.

2.2. Deney Grupları

Ortalama 200–250 g. ağırlığında 50 dişi Sprague Dawley sıçan çalışmaya dahil edilmiştir. Daha sonra sıçanlar 6 gruba ayrılmıştır (Tablo 2.1). Birinci gruba 15 gün boyunca her gün 10 mg/kg siklosporin (CsA) subkutanoz olarak verilmiştir. İkinci gruba 30 gün boyunca her gün 10 mg/kg CsA subkutanoz olarak verilmiştir. Üçüncü gruba 15 gün boyunca her gün 1,5 mg/kg takrolimus (Tak) subkutanoz olarak verilmiştir. Dördüncü gruba 30 gün boyunca her gün 1,5 mg/kg takrolimus subkutanoz olarak verilmiştir. Birinci kontrol grubuna 15 gün boyunca subkutan serum fizyolojik (%0,9 NaCl) enjekte edilmiştir. İkinci kontrol grubuna ise 30 gün boyunca subkutan serum fizyolojik (%0,9 NaCl) enjekte edilmiştir. Sıçanlar her gün tartılmış ve ağırlıklarına göre ilaç dozu ayarlanmıştır. Tüm deney sonunda 30 gün boyunca siklosporin verilen gruptan üç hayvan kaybedilmiştir. Deney süresinin ikinci ve dördüncü haftası sonunda deney hayvanlarının tamamının ağırlıkları tekrar ölçüldü ve yüksek doz anestezi ile sakrifiye edildiler.

2.3. Histolojik Takip İşlemleri

Sakrifikasyonu takiben deney hayvanlarının mandibuler kemikleri çevre yumuşak dokuyu da içerecek şekilde diseksiyonla çıkarıldı ve tamponlu formal saline (0.1 M, pH 7.4) alındı. Ardından doku örnekleri %10'luk ethylene-diamine-tetra-acetic acid (EDTA) içinde, +4°C'de, 3 ay süreyle dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyonun tamamlandığı radyografik olarak teyit edildi.

Tablo 2.1. Çalışma grupları.

Deney Grupları	Hayvan Sayısı	Tedavi	Doz	Süre
I	10	CsA	10 mg/kg	15 gün
II	10	CsA	10 mg/kg	30 gün
III	10	Tak	1,5 mg/kg	15 gün
IV	10	Tak	1,5 mg/kg	30 gün
V	5	NaCl	5 mg/kg	15 gün
VI	5	NaCl	5 mg/kg	30 gün

2.3.1. Parafin Bloklama

Dekalsifikasyonu tamamlanan ve bir gece akar su altında yıkanan örnekler daha sonra doku takip cihazına aktarılarak sırasıyla bir kez 80° ve 90°, üç kez 96°'lik alkollerden; üç kez izopropil alkolden; iki kez de ksilolden ve iki kez de sıcak parafinden geçirildi ve takiben bloklandı. Parafine gömülen dişlerden mikrotomla (SM 2000R, Leica microsystems, Heildelberg, Almanya) 6 μm'lik labio-lingual kesitler alındı. Kesit alınması esnasında gerek bloklar gerekse mikrotom bıçağı, % 30-40'lik etanol ile sürekli nemli tutuldu. Kesitler, poly-L-lizin kaplı lamlara alınarak 37°C' de bir gece boyunca kurutuldu. Doku kesitleri, ksilen serisinde deparafizisyonu takiben, konsantrasyonu azalan etil alkol serisinde geçirilerek rehidre edildi ve sonrasında deiyonize distile suya alındı.

2.4. Boyama

2.4.1. Triple Boyama

Bloklardan alınan 6µm kalınlığındaki kesitler Crossman'un üçlü boyasıyla (Culling ve ark 1985).

2.4.2. TRAP Enzim Demonstrasyonu

Seçilen doku kesitlerinde osteoklastların belirlenmesi amacıyla, bu hücrelere spesifik olan TRAP enzimİ histokimyasal yöntemle demonstre edildi. Bu amaçla, asetat tamponunda (0.2M, pH 5) substrat olarak naftol AS-BI fosfat ve non spesifik enzimatik aktiviteyi bloke edici ajan olarak 50mM L(+) tartarik asit içeren çözeltiye kromojen grup olarak Fast-Red Violet LB diazonyum tuzu (Sigma; St. Louis, MO, ABD) ilave edilerek inkübasyon solüsyonu hazırlandı. Solüsyonun son pH'sı 5'e ayarlandı. Kesitler bu inkübasyon solüsyonda 37°C'de 45 dakika bekletildi (Cole ve Walters, 1987). Daha sonra kesitlere asetat tamponunda hazırlanan (0.2 M, Ph 5,2) %1'lik metil grenle çekirdek boyası uygulandı ve gliserin-jelatinle kapatıldı. TRAP pozitif alanlar dijital görüntü analiz sistemi ile (BS 200 PRO) belirlenerek, elde edilen verilerden birim doku alanındaki ($1,23X10^8$ µm) TRAP pozitif alan oranı (TRAP pozitif alan / Toplam görüntü alanı X 100= Toplam görüntü alanı içindeki TRAP pozitif alan yüzdesi) hesaplandı.

2.5. Histomorfometrik Analizler

Boyanan kesitler ışık mikroskobunda (E400, Nicon Eclipse E400, Kawasaki, Kanagawa Japonya) incelendi. Gerekli görülen bölgelerden, farklı büyütmelerde büyütme çizgisi içeren dijital görüntüler kaydedildi. Kaydedilen histomorfometrik (Hm) görüntüler dijital görüntü analiz programıyla (BS 200 PRO) analiz edildi.

2.6. İstatistik analizleri

Elde edilen sayısal veriler istatistiksel analiz için paket programı[∝] kullanılarak tek yönlü varyans analizi ve iki örnek t testi ile değerlendirildi. P değeri <0.05'ten küçük olan verilerin istatistiki öneme sahip olduğu kabul edildi.

[∝] SPSS for Windows 13.0, SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA.

3. BULGULAR

3.1. Klinik Bulgular

Çalışma gruplarında yer alan deney hayvanlarının ağırlık ortalamaları çizelge 3.1, çizelge 3.2, çizelge 3.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmadaki grupların başlangıçtaki ortalama canlı ağırlıkları (gr).

Hayvan sayısı (n)	**Kontrol** 10	**CsA** 20	**Tak** 20
Ort±Ss	196,23±17,04	194,75±14,04	202,93±12,88

**Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir(p>0.05).*

Çizelge 3.2. Çalışmanın 15. gününde grupların ortalama canlı ağırlıkları (gr).

Hayvan sayısı (n)	**Kontrol** 5	**CsA** 10	**Tak** 10
Ort±Ss	193,93±30,22	206,62±13,57	193,32±15,46

**Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir(p>0.05).*

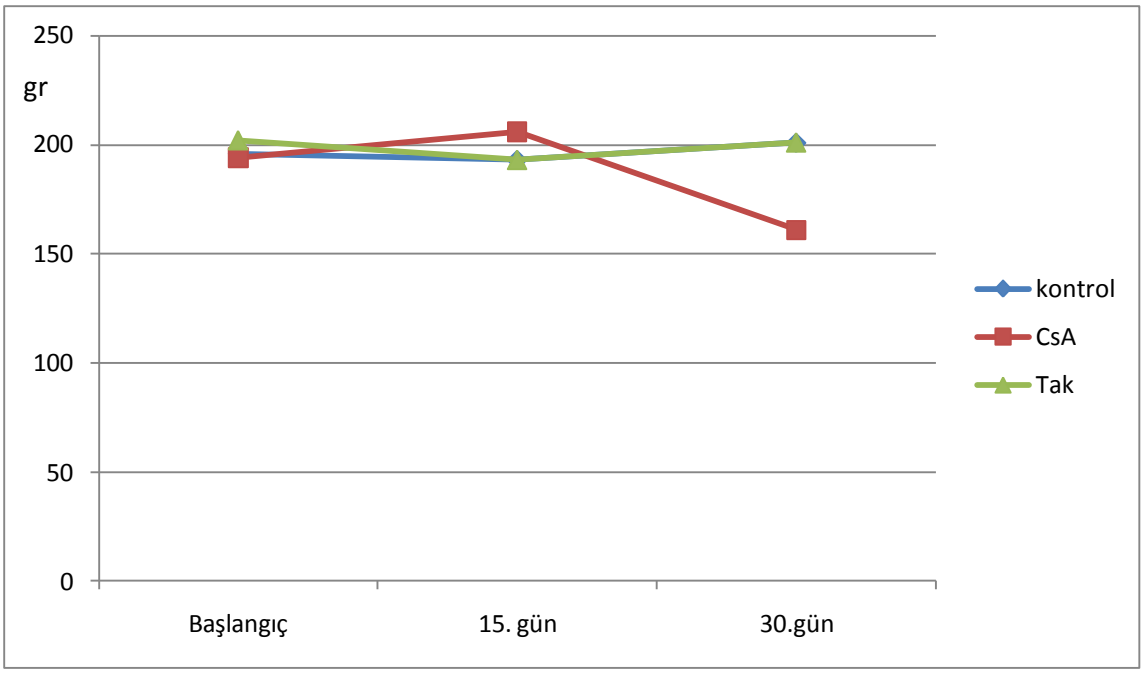
Çizelge 3.3. Çalışmanın 30. gününde grupların ortalama canlı ağırlıkları (gr).

Hayvan sayısı (n)	**Kontrol** 5	**CsA** 7	**Tak** 10
Ort±Ss	201,38±12,28	161,36±14,44	201,30±20,49

**Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir(p<0.05).*

Grupların başlangıç ve 15. gün canlı ağırlık ortalamaları arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.05$). Ancak 30. günde, CsA grubunun canlı ağırlık ortalamasının diğer gruplarınkinden önemli derecede daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0.05$).

Çalışma boyunca grupların canlı ağırlık ortalamalarındaki değişiklikler grafik 1.'de gösterilmiştir.



Grafik 3.1. Çalışma boyunca grupların canlı ağırlık ortalamaları.

3.2. TRAP enzim histokimyası sonuçları

TRAP pozitivite, kemik trabekülleri yüzeyinde yerleşen osteoklastların sitoplazmalarında koyu kırmızı reaksiyon ürünü halinde gözlendi. Kemik dokusu ve bağ dokusunun diğer hücrelerinde bu reaksiyon ürününe rastlanmadı (Resim 3.1).

Çalışma gruplarında yer alan deney hayvanlarının 15 günlük ve 30 günlük TRAP pozitivite değerleri çizelge 3.4 ve 3.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Onbeş günlük hayvanların TRAP pozitivite değerleri (%).

TRAP değeri	**Kontrol**	**CsA**	**Tak**
Ort±Ss	0,27±0,08	0,44±0,24	0,26±0,08

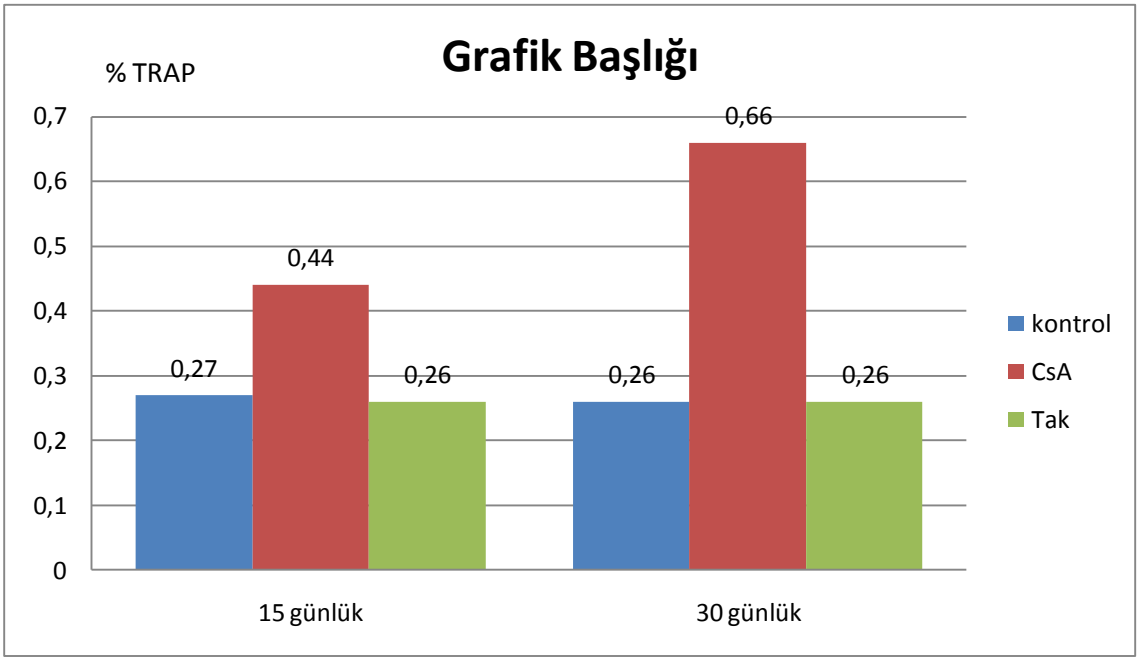
**Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0.05).*

Çizelge 3.5. Otuz günlük hayvanların TRAP pozitivite değerleri (%).

TRAP değeri	**Kontrol**	**CsA**	**Tak**
Ort±Ss	0,26±0,07	0,66±0,15	0,26±0,08

**Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir (p<0.05).*

Çalışma boyunca grupların deney hayvanlarının 15 günlük ve 30 günlük TRAP pozitivite değerleri grafik 3.2.'de gösterilmiştir.



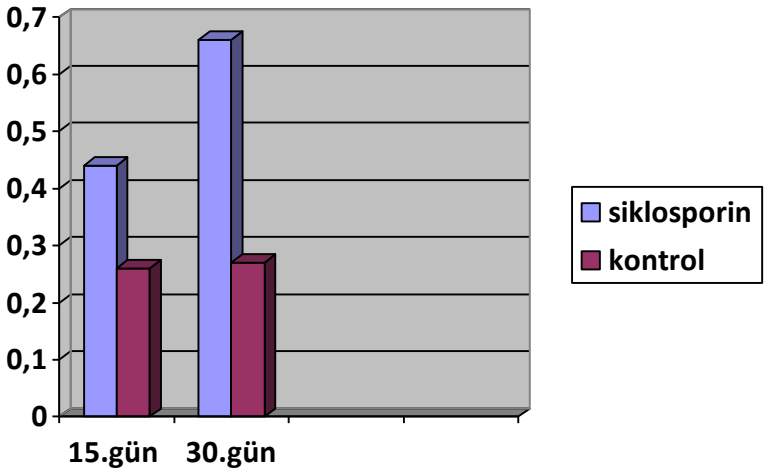
Grafik 3.2. Çalışma boyunca grupların TRAP pozitivite değerleri

CsA grubundaki hayvanların 15 ve 30 günlük TRAP pozitivite değerleri çizelge 3,6 ve grafik 3,3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.6. CsA grubundaki TRAP pozitivite değerleri (%).

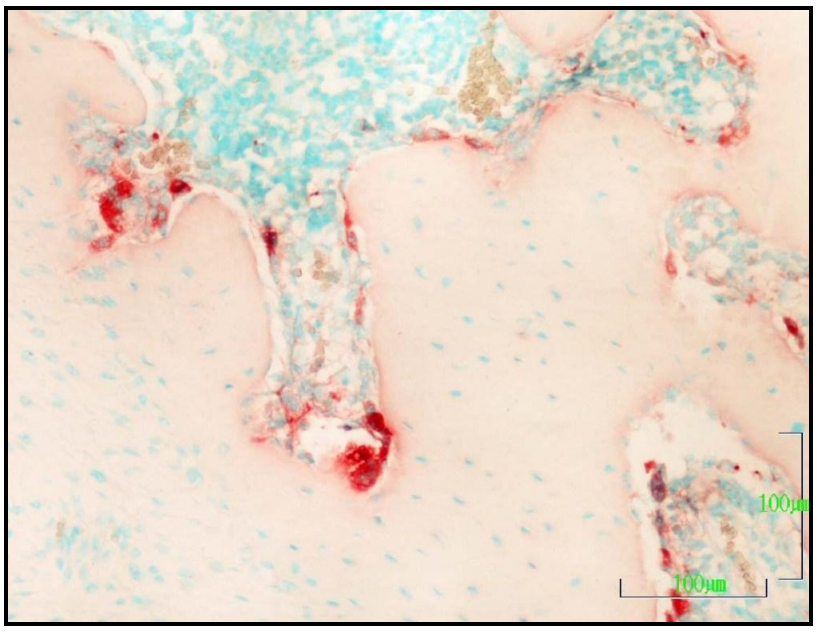
TRAP değeri	**CsA (15)**	**CsA (30)**
Ort±Ss	0,44±0,24	0,66±0,15

**Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0.05).*



Grafik 3.3. Çalışma boyunca CsA grubundaki TRAP pozitivite değerleri

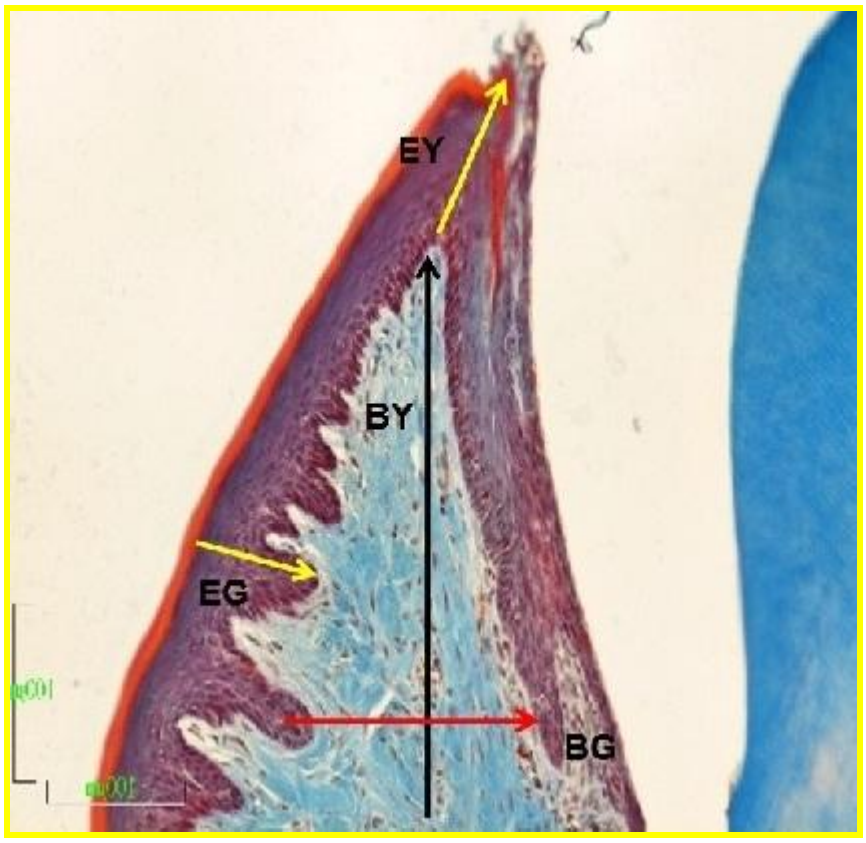
Grupların 15. günlük TRAP pozitivite değerleri arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0.05$). Ancak 30. günde, CsA grubunun TRAP pozitivite değerleri diğer gruplarınkinden önemli derecede daha yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$). CsA grubundaki hayvanların 15 ve 30 günlük TRAP pozitivite değerleri arasında ise anlamlı fark tespit edilemedi ($p=0.05$).



Resim 3.1. CsA grubundan bir hayvanın 30. gündeki çene kesiti görülmektedir. Kemik trabeküllerinin yüzeyinde yerleşen TRAP pozitif osteoklastların sitoplazmasında kırmızı reaksiyon ürünü görülmektedir. TRAP enzimi histokimyası, büyütme çizgisi: 100µm

3.3. Histomorfometri sonuçları

Çalışma gruplarında yer alan deney hayvanlarının 15 günlük ve 30 histomorfometri sonuçları çizelge 3.7 ve çizelge 3.8'te gösterilmiştir. Değerlendirmeler şekil 3.1'e göre hesaplanmıştır.



Şekil 3.1. Histomorfometrik ölçümlerin yapıldığı bölgeleri gösteren şematik çizim. EG; epitel genişliği, EY; epitel yüksekliği, BY; dişeti bağ dokusu yüksekliği, BG; dişeti bağ dokusu genişliği.

Çizelge 3.7. Onbeş günlük hayvanların histomorfometrik ölçüm sonuçları (µm).

Ölçüm (µm)	Kontrol	CsA	Tak	P değeri
EG (Ort±Ss)	49,66±1,30	53,99±01,80	49,92±1,17	0,000*
BY (Ort±Ss)	307,88±1,56	311,49±5,75	307,96±2,52	0,125
EY (Ort±Ss)	56,45±0,65	59,26±2,19	56,92±0,85	0,002*
BG (Ort±Ss)	94,61±0,77	100,03±3,41	94,86±2,60	0,001*

**Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir (p<0.05).*

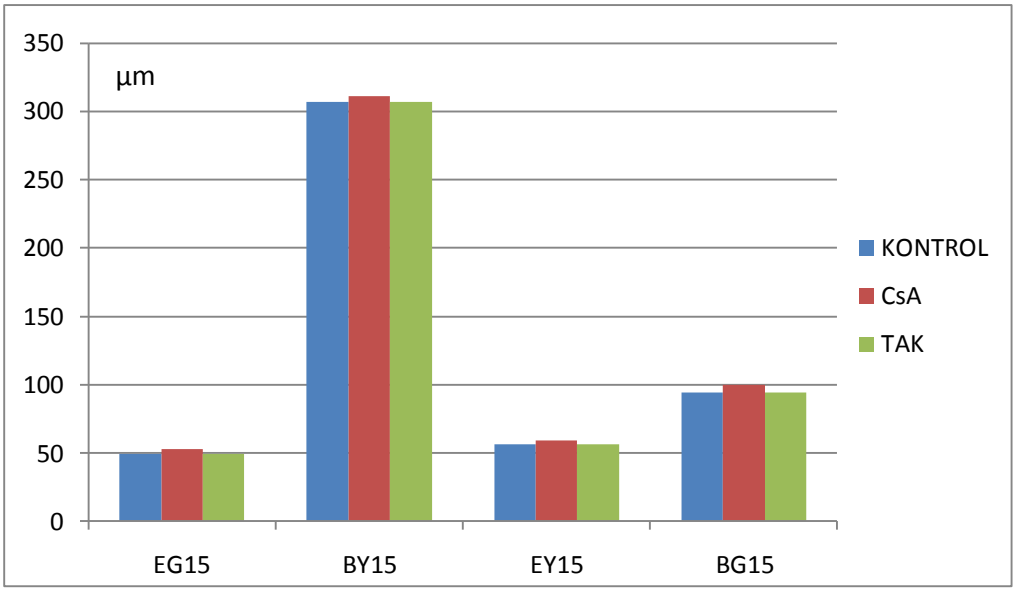
Çizelge 3.8. Otuz günlük hayvanların histomorfometri sonuçları (µm).

Ölçüm (µm)	Kontrol	CsA	Tak	P değeri
EG (Ort±Ss)	49,77±0,84	114,96±2,77	49,97±1,05	0,000*
BY (Ort±Ss)	307,98±3,02	640,13±6,88	308,62±2,82	0,000*
EY (Ort±Ss)	56,74±0,36	125,82±10,31	58,61±1,20	0,000*
BG (Ort±Ss)	94,84±1,60	204,91±16,73	98,36±2,90	0,000*

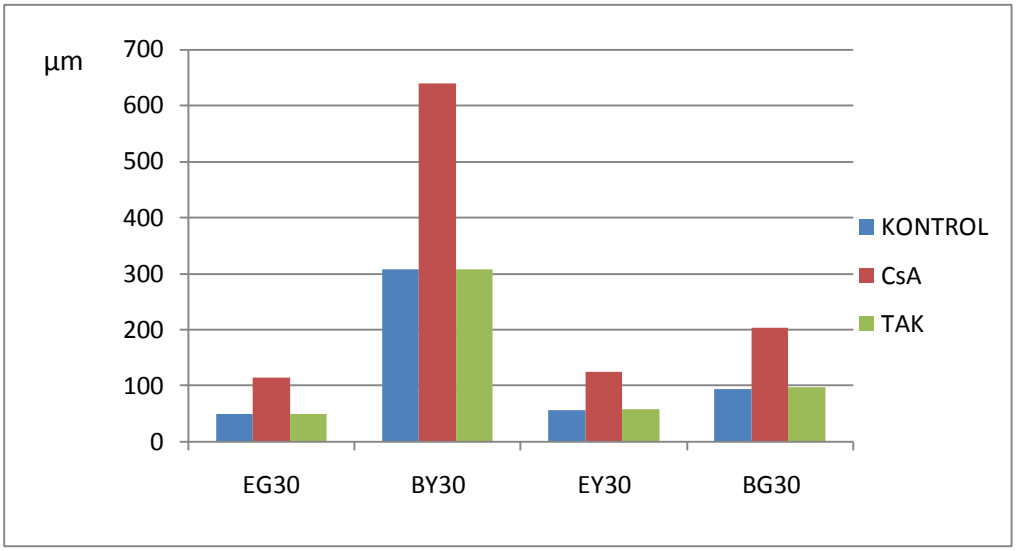
**Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir (p<0.05).*

Grupların 15 günlük EG, EY, BG değerlerinin, CsA grubunda arasında anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edildi (p<0.05). Ancak 15 günlük BY değeri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı fark izlenmedi (p>0.05). Grupların 30 günlük EG, EY, BG, BY değerlerinin, CsA grubunda arasında anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edildi (p<0.05).

Çalışma boyunca deney hayvanlarının 15 ve 30 günlük histomorfometri sonuçları grafik 3.4 ve 3.5.'te gösterilmiştir.



Grafik 3.4. Onbeş günlük hayvanların histomorfometri sonuçları.



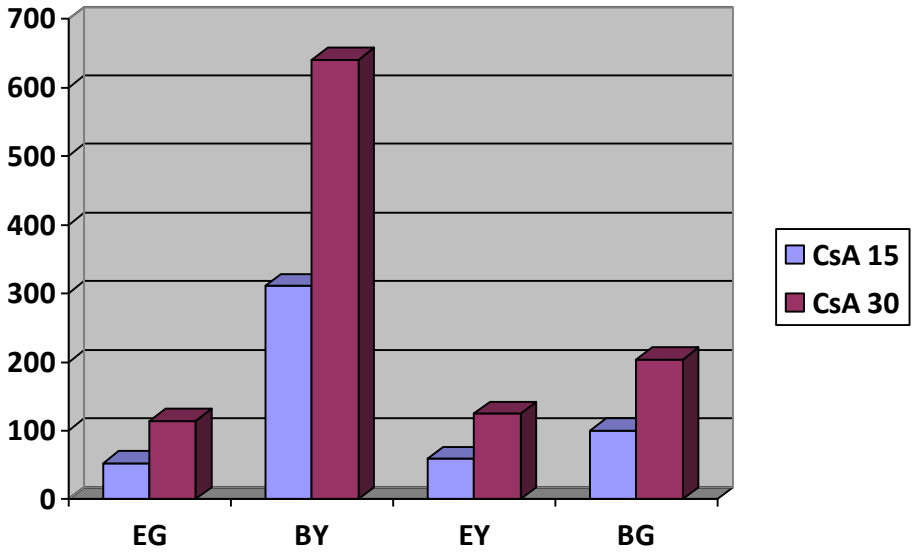
Grafik 3.5. Otuz günlük hayvanların histomorfometri sonuçları.

CsA grubundaki hayvanların 15 ve 30 günlük EG, EY, BG, BY değerleri çizelge 3.9'ta gösterilmiştir.

Çizelge 3.9. CsA grubundaki 15 ve 30 günlük histomorfometri sonuçları (µm).

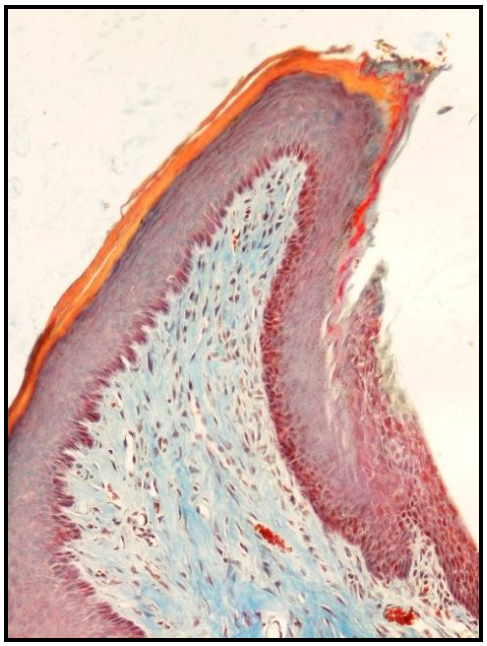
Hm (µm)	**CsA 15**	**CsA 30**	**P değeri**
EG (Ort±Ss)	53,99±01,81	114,96±2,77	0,000*
BY (Ort±Ss)	311,49±5,75	640,13±6,88	0,000*
EY (Ort±Ss)	59,26±2,19	125,8±10,30	0,000*
BG (Ort±Ss)	100,03±3,41	204,9±16,70	0,000*

CsA grubundaki hayvanların 15 ve 30 günlük EG, EY, BG, BY değerleri arasında anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$). Bu değişimler grafik 3.6'da gösterilmiştir.

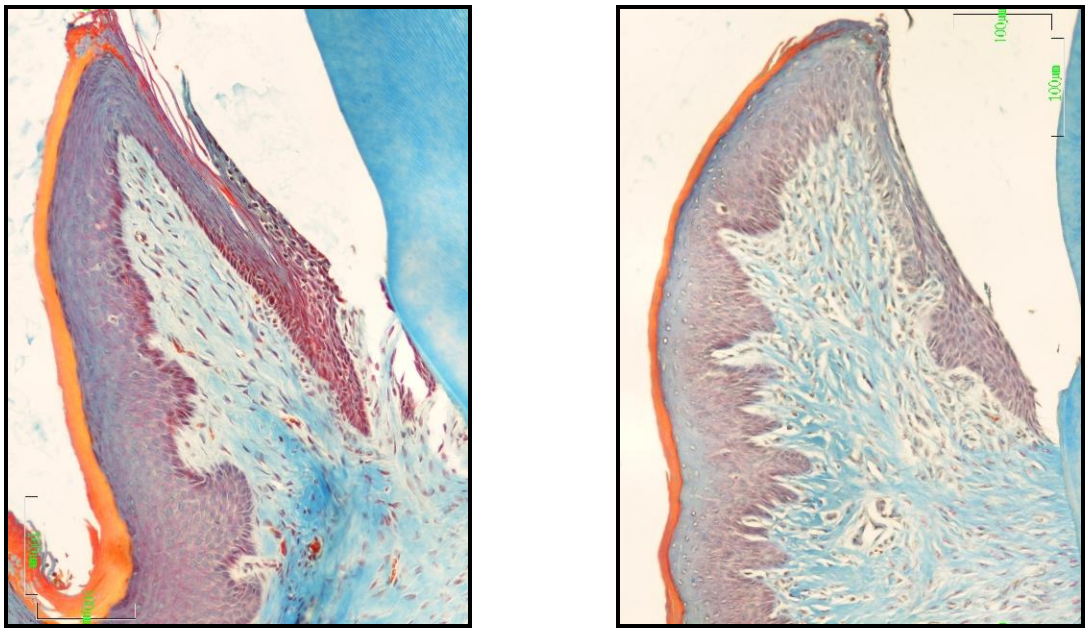


Grafik 3.6. Çalışma boyunca CsA grubundaki histomorfometri değerleri

Çalışmamızda yer alan kontrol ve CsA grubundaki hayvanların kesitleri resim 3.2, 3.3'te gösterilmiştir.



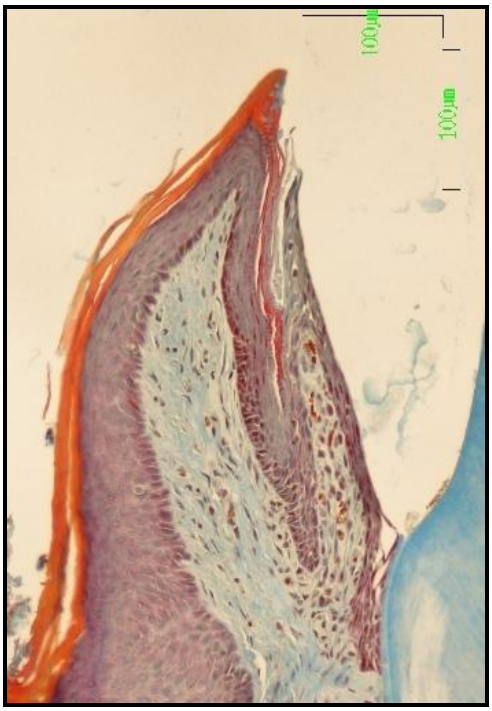
Resim 3.2. Kontrol grubundan bir hayvanın kesiti.



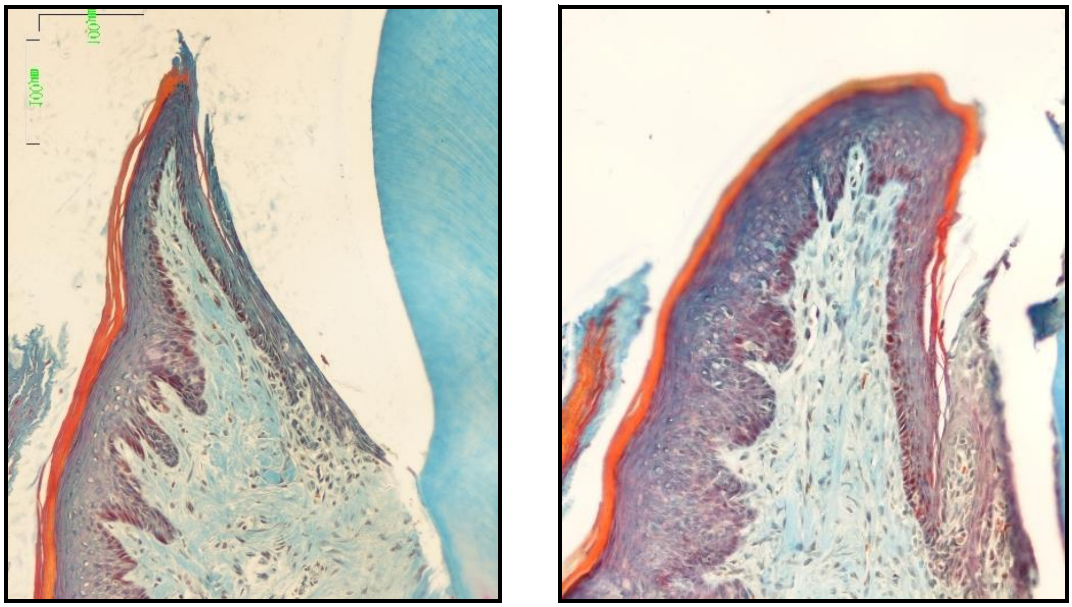
(a) (b)

Resim 3.3. CsA grubundan 15 (a) ve 30 (b) günlük bir hayvanın kesiti.

Çalışmamızda yer alan kontrol ve takrolimus grubundaki hayvanların kesit resimleri resim 3.4, 3.5'te gösterilmiştir.



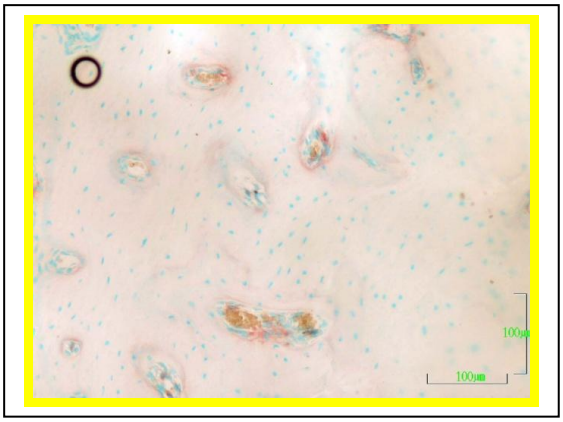
Resim 3.4. Kontrol grubundan bir hayvanın kesiti



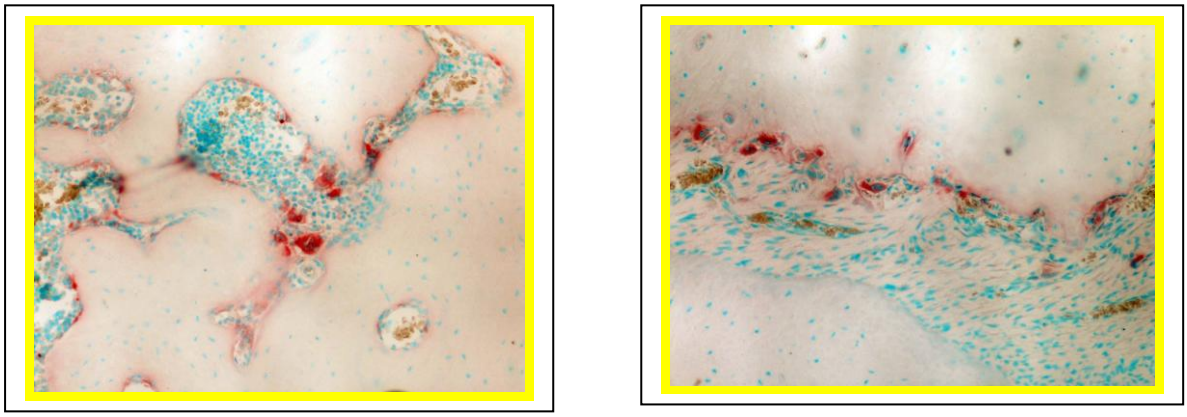
(a) (b)

Resim 3.5. Takrolimus grubundan 15 (a) ve 30 (b) günlük bir hayvanın kesiti.

Çalışmamızda yer alan kontrol, CsA ve takrolimus grubundaki hayvanların TRAP kesiti resimleri resim 3.6, 3.7 ve 3.8'te gösterilmiştir.

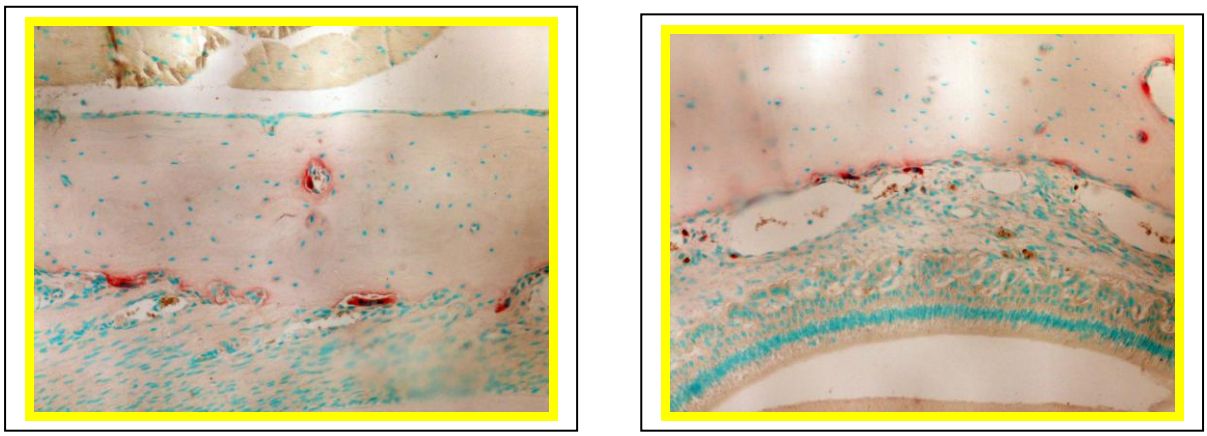


Resim 3.6. Kontrol grubundan bir hayvanın TRAP kesiti.



(a) (b)

Resim 3.7. Siklosporin grubunda 15 (a) ve 30 (b) günlük bir hayvanın TRAP kesiti.



(a) (b)

Resim 3.8. Takrolimus grubunda 15 (a) ve 30 (b) günlük bir hayvanın TRAP kesiti.

4.TARTIŞMA

Dişeti büyümeleri, fonksiyonel, estetik ve fonetik komplikasyonlara yol açtığından, günümüzde periodontal sağlık açısından büyük önem taşımaktadır. Dişeti büyümelerine neden olan çeşitli faktörler arasında hastanın kullandığı bazı ilaçlar da yer almaktadır. Bu ilaçlar 3 ana grupta toplanmaktadır. Bunlar; immünosupresanlar (CsA, takrolimus), kalsiyum kanal blokörleri (nifedipin) ve antikonvülsanlardır (fenitoin). Bu ilaçlardan immunosupresanlar; organ nakli yapılan hastalarda organ reddini önlemek için, multiple skleroz, romatoid artrit vb. immunolojik hastalıkların tedavisinde kullanılır (Seymour 2000).

Sağlıklı dişeti pembe rengi, sıkı kıvamı ve dişeti kenarında dantel tarzında görünüme sahip olması ile tanınır. Sağlıklı dişetinde interdental papil sıkıdır, sondalamada kanama olmaz, diş üzerinde bıçak sırtı şeklinde sonlanır (Lindhe 1985).

Bugüne kadar yapılan çalışmalar ilaca bağlı dişeti büyümelerinin etiyolojisinde birçok faktörün rolü olduğunu ortaya koymuştur. Dişeti büyümesinde fibroblastların ekstraselüler matriksle etkileşme mekanizması, genetik, büyüme faktörleri, ilaçların farmakokinetiği, enflamatuar mediyatörlerin bir kısmı veya hepsi rol oynayabilir. Tüm bu faktörler ilaca bağlı dişeti büyümesinin oluşumunu yönlendirebilir (Hallmon ve Rossmann 2000).

CsA'ya bağlı dişeti büyümesinin gelişimi diğer ilaç grupları gibi öncelikle interdental papilin büyümesi ile başlar. Görülme sıklığı % 8-70 arasında değişir. Dişeti büyümesi anterior bölgede posterior bölgeye göre daha yüksek sıklıkta görülmektedir (Shibiliy 1997).

Takrolimusun gingival dokular ve dişeti büyümesi üzerine etkisini araştıran çalışma sayısı sınırlıdır. Kimi araştırmacılar takrolimus kullanan hastalarda dişeti büyüme prevalans ve şiddetinin CsA'ya oranla daha az olduğunu gösterirken (Costa ve ark 2006) kimi araştırmacılar ise dişeti büyümesine yol açmadığını bildirmiştir (James ve ark 2001, McKaig ve ark 2002, Spolidorio ve ark 2006).

Camargo ve ark'na (2001) göre, dişeti büyümesine neden olan ilaçların mekanizması henüz daha tam olarak anlaşılmış değildir. Proliferasyonda dişeti fibroblastları tarafından üretilen inaktif formdaki kollegenazın rol oynadığı düşünülmüştür. Bu enzimin dişeti doku hacmini kollagen üretim ve yıkım arasındaki dengeyi bozarak değiştirdiği düşünülmüştür. Yine Cebeci ve ark (1998),

siklosporinin kollegenaz aktivitesini azalttığını, fibroblastların kollagen, protein üretimini ve matriks formasyonunu arttırdığını saptamışlardır.

Gangliano ve ark (2004), siklosporine bağlı oluşan dişeti büyümesinde, ekstraselüler matrikste değişik modifikasyonların oluştuğunu belirtmişlerdir. MMP'ların; kollagen yıkım mekanizmasında temel rol oynadığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada, dişeti büyümesi olan bölgelerin dişeti fibroblastlarındaki kollagen üretiminin, MMP-1 aktivitesindeki azalmaya bağlı olarak geliştiğini saptamışlardır. Siklosporin verilmesinden 72 saat sonra tip I kollagen ve TGF-β1 genlerinin ekspresyonunda artış olduğu görülürken kollagenolitik aktivitede azalma ve buna bağlı olarak kollagen 1 miktarında artış gözlenmiştir. Coley ve ark (1986) ise invitro ortamda yaptıkları çalışmada, siklosporinin tip I'in prokollagen seviyesindeki önemli artışı indüklediğini göstermişlerdir.

Atilla ve ark (2001), siklosporin tedavisi gören ve dişeti büyümesi olan böbrek nakli hastalarında, gingivitisli hastalarda ve periodontal olarak sağlıklı olan kontrol gruplarının DOS örneklerinde MMP-8, MMP-9 seviyelerini incelemişlerdir. Bu çalışmanın sonucuna göre siklosporine bağlı dişeti büyümesi görülen alanlardan elde edilen DOS'daki MMP-8 ve MMP-9 seviyesi genelde dişeti enflamasyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. CsA'nın dişeti büyümesinin patogenezinde yıkıma nazaran yeni doku oluşumunda etkisinin olabileceği ileri sürülmüştür.

Tüter ve ark (2002), böbrek nakli sonrası siklosporin alınmasına bağlı dişeti büyümesi olan hastalar ile periodontal açıdan sağlıklı kişilerin dişetlerinden doku örneği alıp MMP-1 ve doku inhibitör matriks proteniaz-1 (TIMP-1) seviyelerini belirlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda siklosporin kullanımının, MMP-1 seviyesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığını bulmuşlardır. Buna rağmen siklosporine bağlı dişeti büyümesinin patogenezinde düşük TIMP-1 seviyesinin önemli rol oynayabileceğini, çünkü siklosporin kullanımına bağlı olarak MMP-1 ve TIMP-1 arasındaki dengenin değiştiğini belirtmişlerdir. Woessner (1991), dişeti büyümesinin etiyolojisinde dişeti ekstraselüler matriks metabolizmasının çalışma modeli olarak kullanılmasının, dişeti büyümesindeki mekanizmayı ve doku spesifitesini daha iyi anlamımızı sağlayacağını bildirmişlerdir.

Modeer ve ark (1992), siklosporinin kapsül formuna nazaran likid tarzı kullanımında total tükürükteki siklosporin seviyesinin daha yüksek oranda

bulunduğunu bildirmişlerdir. Mc-Kaig ve ark (2002), siklosporini 6 aydan kısa süre kullananların serum seviyelerinin düşük olduğunu saptamışlardır. Siklosporin kullanımına bağlı oluşan dişeti büyümesinin yalnızca plak ve ilaçla ilgili basit bir durum olmadığı, hastaların 2/3'nde oluşan dişeti büyümesinin periodontal parametreler, tükrük ve DOS'un siklosporin seviyesi, siklosporin metabolizması ve dişeti fibroblastlarının heterojinitesinin değerlendirilmesi sonucu daha iyi ortaya konabileceği ileri sürülmüştür.

4.1.Hayvan çalışmaları

Nishikawa ve ark (1996), sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarda ilaca bağlı dişeti büyümesinin ilacın serum seviyesi ve ilaç dozuna bağlı olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar bu faktörlerin etkinliğinin rat modelinde ortaya konulmasının, dişeti büyümesinin moleküler patogenezinin aydınlatılmasında yararlı olabileceğini belirtmişlerdir. Radwan ve ark (2003) CsA dozunun siklosporine bağlı dişeti büyümesinde risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmamızda CsA grubuna 10 mg/kg, takrolimus grubuna 1,5 mg/kg ilaç verilmiştir. İlaç uygulama süreleri de 15 ve 30 gün arasında değişmiştir. İki grupta da dişeti büyümesi gözlenmiştir. Bu bize ilaçların istenilen serum seviyelerine ulaştığını göstermektedir.

CsA'ya bağlı dişeti büyümeleri için yaşın bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir. (Daley ve ark 1986, Hefti ve ark 1994). Bu gözlemler hayvan çalışmalarıyla desteklenmiştir (Kitamura ve ark. 1990, Morisaki ve ark. 1993). Bu çalışma 4 aylık sıçanlarda yürütülmüş olup dişeti büyümesi gözlenmiştir.

Cinsiyetin, ilaca bağlı dişeti büyümelerinde risk faktörü olup olmadığını araştıran çok az çalışma vardır. Çoğu CsA çalışmasında erkek birey daha fazladır, çünkü organ transplantasyonu (özellikle kalp transplantasyonu) daha çok erkeklere yapılmaktadır. Yapılan çalışmalar, ilaca bağlı dişeti büyümesinin oluşma riskinin ve şiddetinin erkeklerde daha fazla olduğunu göstermiştir (Thomason ve ark.,1996). Diğer bir çalışmada, kalsiyum kanal blokörü kullanan erkeklerde kadınlardan 3 kat daha fazla dişeti büyümesi gözlenmiştir (Ellis ve ark. 1999). Dişeti büyümesinin oluşması için belirli bir serum eşik değeri olduğu ve erkeklerde bu düzeyin daha düşük olduğu üzerinde durulmuştur (Seymour ve ark. 2000). Ishida ve ark (1995) yaptıkları bir hayvan çalışmasında, nifedipine bağlı dişeti büyümesi için gerekli minimum kan seviyesinin erkek ratlarda dişi ratlara göre daha fazla olduğunu

saptamışlardır. Bu konsantrasyonlara ulaşıldıktan sonra dişeti büyümesinin derecesinin her iki cinsiyette de kan seviyesi ile orantılı hale geldiğini bildirmişlerdir. Elde ettikleri veriler ile erkek sıçanların dişilere göre nifedipine bağlı dişeti büyümelerine daha fazla duyarlı olduklarını ortaya koyarak, bu durumu hormonal yapı ile ilişkilendirmişlerdir. Bu çalışmada dişi sıçanlar üzerinde yürütülmüş olup dişeti büyümesi gözlenmiştir. Bu da verilen ilaçların serum seviyelerinde istenilen doza ulaştığını göstermektedir.

Prabhu ve Mehta (2006), yaptıkları 30 günlük çalışmada ratlara 30 mg/kg CsA ve 1,5 mg/kg takrolimus uygulamışlardır. Çalışmada dişeti büyüme belirtileri 2. haftada belirginleşmeye başlamıştır. Her iki grupta da dişeti büyümesi gözlenmiş olup CsA gurubunda bu çok belirgin noktaya ulaşmıştır. Gruplar arası ağırlık ölçümlerinde ise CsA ve takrolimus grubunun canlı ağırlıkları, kontrol grubundan daha düşük tespit edilmiştir. Yalnız istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu çalışmada dişeti büyümeleri 2. haftada belirginleşmeye başlamıştır. Aynı şekilde CsA grubunda dişeti büyümeleri takrolimus grubuna göre daha belirgin bir şekilde ortaya çıkmıştır.

Spolidorio ve ark (2001), oluşturdukları gruplara 60 gün boyunca CsA vermişlerdir. Bu süreçten sonra ilacı kesip belirli aralıklarla ratları dekapite etmişlerdir. Hayvanların ilk dekapite edildikleri 60. günde belirgin şekilde dişeti büyümeleri gözlenmiştir. Ama ilaç kesilmesinden 90 gün sonra dişeti büyümesinde belirgin bir azalma görülmüştür. Bakılan kesitlerde normale göre az da olsa dişeti büyümelerinin devam ettiği saptanmıştır. Stereometrik bulgularda ise 60. günde belirgin bir şekilde CsA grubunda fibroblast ve kollagen dansitesinde artma, kemik dansitesinde ise azalma görülmüştür. Bu çalışmada da CsA grubunda hacim olarak artmış bağ dokusu izlenmiştir. Aynı şekilde yüksek oranda TRAP enzim pozitivitesi görülmüştür. Bu da CsA'nın kemikte yaptığı yıkıma işarettir. Aynı araştırmacıların yaptıkları diğer bir çalışmada CsA ve nifedipinin farklı yaşlardaki sıçanların alveoler kemikleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. İki grupta da alveoler kemik densitesinde azalma görülmüş olup, CsA grubunda bu daha çok belirgindir (Spolidorio 2004). Bu çalışmada CsA grubunda belirgin artmış osteoklastik aktivite gösterilmiştir. Özellikle 30. günde artmış TRAP enzim pozivite gösterilmiştir. Bu da CsA'nın alveol kemik üzerine etkisini göstermektedir.

Nassar ve ark (2008), takrolimusla yaptıkları 240 günlük bir çalışmada dişeti büyümelerini incelemişlerdir. Elde edilen verilerde 60. ve 120. günlerde herhangi bir büyüme gözlenmemiştir. Ancak 180. ve 240. günlerde belirgin bir büyüme tespit edilmiştir. Bu büyüme bağ dokusundaki artışla karakterizedir. Dişeti büyümesinin zamana bağlı bir ilişkisi gösterilmiştir. Bu çalışmada aynı şekilde takrolimus grubunda 15. ve 30. günler arasında dişeti büyümeleri açısından önemli farklar tespit edilmiştir. Bu da ilaç uygulama süresinin takrolimusun yapacağı dişeti büyümesinde etkisi olabileceğini göstermektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Siklosporin uygulanan hayvanlarda takrolimus uygulanan hayvanlara göre daha fazla kilo kaybı gözlenmiştir.

2. Siklosporin grubunda takrolimus uygulanan hayvanlara göre daha fazla dişeti büyümesi gözlenmiştir.

3. Siklosporin grubunda TRAP pozivitesi daha yüksek oranda tespit edildi. Bu bulgu siklosporinin osteoporotik etkisi ile ilişkili olabilir.

4. Siklosporin verilen grupta 30. günde dekapite edilen hayvanların histomorfometrik değerleri 15. gündeki histomorfometrik değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulundu.

5. Kontrol grubu ve takrolimus verilen grupta TRAP pozivitesi açısından herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir.

Bu çalışmanın sınırları içerisinde, siklosporinin takrolimusa göre dişeti büyümesi ve kemik yıkımı açısından daha fazla etkili olabileceği gözlenmiştir. Takrolimus siklosporine göre daha uzun süre kullanıldığında dişeti büyümesi yapmaktadır, bu da yan etkileri bakımından ilaç uygulama süresinin önemini ortaya konmaktadır. Takrolimusun, siklosporinin yan etkileri düşünüldüğünde dişeti büyümesi gözlenen hastalar için bir seçenek olabileceğini düşünmekteyiz. Bundan sonra, dişeti büyümesinin oluşmasında etkili olan metabolik faktörlerin değerlendirilmesi gerektiği inancındayız.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sıçanlarda Siklosporin Ve Takrolimus Uygulamasının Periodontal Dokular Üzerine Etkileri

Ural KARADUMAN
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ / KONYA-2011

Bu araştırmanın amacı deneysel oluşturulan sıçan gruplarında siklosporin (CsA) ve takrolimus (tak) kullanıldığında dişeti dokularındaki enflamasyon bulguları üzerine olan etkilerini araştırmaktır. Bu amaçla deneysel olarak oluşturulan sıçanlardan alınan doku örnekleri rutin histolojik kesit işlemleri ile incelenmiş, daha sonra da dişeti büyüme miktarı, kemik yıkım miktarına bakılmıştır. Kemik remodelasyonunda, rezorbsiyonun değerlendirilmesinde tartrat rezistant asit fosfataz (TRAP) pozivite değerlerine bakılarak kemik kaybıyla ilişkisi değerlendirilmiştir.

Ortalama 200–250 g. ağırlığında 50 dişi Sprague-Dawley sıçan çalışmaya dahil edilmiştir. Sıçanlar sadece standart yem ve su ile beslenmiştir. Sıçanlar 6 gruba ayrılmıştır. Birinci gruba 15 gün boyunca her gün CsA (10 mg/kg) subkutanoz olarak, ikinci gruba 30 gün boyunca her gün CsA (10 mg/kg) subkutanoz olarak verilmiştir. Üçüncü gruba 15 gün boyunca her gün takrolimus (1,5 mg/kg) subkutanoz olarak, dördüncü gruba 30 gün boyunca her gün takrolimus (1,5 mg/kg) subkutanoz olarak verilmiştir. Kontrol gruplarını da subkutan serum fizyolojik (%0,9 NaCl) enjekte edilmiştir. Sıçanlar her gün tartılmış ve ağırlıklarına göre ilaç dozu ayarlanmıştır. İlaç uygulamasından sonra yüksek doz anestezik enjekte edilerek sakrifiye edilmişlerdir. Dişetindeki histolojik değerlendirmeler 15. gün ve 30. günlerde alınan mandibuler kesitlerde değerlendirilmiştir. Histomorfometrik ölçümlerin yapıldığı bölgeler EG; epitel genişliği, EY; epitel yüksekliği, BY; bağ dokusu yüksekliği, BG; bağ dokusu genişliği şeklinde gösterilmiştir.

Çalışmanın sonucunda grupların başlangıç ve 15. gün canlı ağırlık ortalamaları arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.05$). Ancak 30. günde, CsA grubunun canlı ağırlık ortalamasının diğer gruplarınkinden önemli derecede daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Grupların 15 günlük EG, EY, BG değerlerinin, CsA grubunda arasında anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Ancak 15 günlük BY değeri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı fark izlenmedi ($p>0.05$). Grupların 30 günlük EG, EY, BG, BY değerlerinin, CsA grubunda arasında anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Grupların 15. günlük TRAP pozivite değerleri arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0.05$). Ancak CsA grubunun 15. ve 30. günlerdeki TRAP pozitivite değerleri diğer gruplarınkinden önemli derecede daha yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$). CsA grubundaki hayvanların 15. ve 30. günlerdeki TRAP pozivite değerleri arasında ise anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0.05$).

Bu araştırmanın sınırları içerisinde CsA'nın takrolimusa göre daha fazla dişeti büyümesi yapma ve kemik yıkım kapasitesi olduğu, aynı zamanda takrolimusun yan etkilerinin ortaya çıkmasının süreye bağlı olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Dişeti büyümesi; Alveoler kemik; CsA; Tak; TRAP

7.SUMMARY

The effects of cyclosporin and tacrolimus on the periodontal tissues of rats

The aim of this study was to evaluate histologic alterations of gingiva and alveoler bone of rats treated daily with 10 mg/kg Cyclosporin A and 1,5 mg/kg takrolimus for 30 days. Enzyme histochemically the levels of tartrate resistance acid phospotaz (TRAP) are observed and their relationship with bone loss is evaluated.

Cyclosporin A (CsA) and Takrolimus(Tak) are immunosupressive drugs which is freguently used in organ transplantation. CsA can cause to various side effects including gingival overgrowth. However, it has unfavorable effects on kidney, liver and bone healing. 50 Sprague-Dawley female rats were used in our study. Animals were divided in to six main groups respectively: control 15, control 30, CsA 15, CsA 30, takrolimus 15, takrolimus 30. All experimental groups received 10 mg/kg/day CsA and 1,5 mg/kg takrolimus via subcutan injection. All main groups were sacrified at 16th, 31th days respectively. At this time all rats were weighed. Right segment of the mandible were processed for rutine histological observation.

According to our findings, there were diferences in weight levels between groups on 16th and 31th days, which were statistically significant ($p<0.05$). In CsA administrated group weight levels was significantly less than others groups. On the other hand, in group in which CsA group was diferences in histologic observation between groups ($p<0.05$). In CsA administered group developed gingival overgrowth developed, with increased thickness of the epithelium, height and width of the connective tissue. The density of fibroblasts and collagen fibers also increased. Also in CsA group was diferences in alveoler bone volume. In CsA administered group TRAP leves was significantly more than others group.

In the limit of study, it can be stated cyclosporin and tacrolimus were capable causing gingival enlargement in Sprague-Dawley rats. However, the magnitude of tacrolimus influenced gingival enlargement seemed to be comparatively less than cyclosporin. These results indicate CsA decrease the loss of alveoler bone volume. It may be concluded that the deleterious side effects of tacrolimus on the gingival tissues of rats may betime-related.

Key Words: Gingival enlargement; Alveoler bone; CsA; Tak; TRAP

8.KAYNAKLAR

1. Academy Report. Drug-associated gingival enlargement. İnformational paper. J. Periodontol 2004; 75: 1424-1431.
2. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol 1999; 4: 1–6.
3. Atilla G, Kütükçüler N. Crevicular fluid interleukin-1 beta, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 levels in renal transplant patients receiving cyclosporine A. J Periodontol 1998; 69: 784-90.
4. Barack S, Engelbergt IS, Hisst J. Gingival hyperplasia caused by histopathologic findings. J Periodontol 1987; 58(9): 639–642.
5. Barclay S, Thomason J M, Idle J R, Seymour R A. The incidence and severity of nifedipine-induced gingival overgrowth. J Clin Periodontol 1992; 19: 311- 314.
6. Barnard J, Lyons M, Moses H. The cell biology of transforming growth factor beta. Biochim Biophy Acta 1990; 1032: 79-87
7. Bekersky I, Fitzsimmons SW, Tanase A: Nonclinical andearly clinical development of tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis. J Am Acad Dermatol 2001; 44: 17-27.
8. Bennett WM, Porter GA. Nephrotoxicity of common drugs used by urologists. Urologic Clinics of North America 1990; 17(1): 145-156.
9. Bennett WM. Comparision of cyclosporin nephrotoxicity with aminoglicoside nephrotoxicity. Clin Nephrol 1986; 25: 126-29.
10. Bimstein E, Matsson L. Growth and development considerations in the diagnosis of gingivitis and periodontitis in children. Rev Pediatr Dent 1999; 21: 186–191.
11. Bolcato-Bellemin A-L, Elkamin R, Tenenbaum H: Expression of RNAs encoding for alpha and beta integrin subunits in periodontitis and in cyclosporine A gingival overgrowth. J Clin Periodontol 2003; 30: 937-43.
12. Borel JF, İshizaka K, Lachmann PJ, Waksman BH, eds. Cyclosporin progress in allergy. 1986 vol: 38.
13. Borel JF. Pharmacology of cyclosporine (sandimmune). IV. Pharmacological properties in vivo. Pharmacol Rev. 1990 Sep; 41(3): 259-371.
14. Borel JF. From our laboratories: Cycloporin A. Triangle 1981; 20:97-105.
15. Brown Ronald S., Beaver William T., Bottomley William K. On he mechanism of drug-induced gingval hyperplasia 1991; 20: 201-209.
16. Buduneli E, Atilla G, Kütükçüler N. Evaluation of p53, bcl-2 and interleukin-15 levels in gingival crevicular fluid cyclosporine A-treated patients. J Periodontol 2003; 74: 506-11.
17. Bulut S, Alaadinoğlu E, Bilezikçi B, Demirhan B, Moray G. Immunohistochemical analysis of lymphocyte subpopulations in cyclosporin A- induced gingival overgrowth. J Periodontol 2002; 73: 892-99.
18. Bunjes D, Hardt C, Rollinghoff M, Wagner H. Cyclosporin A mediates immunosuppression of primary cytotoxic T cell responses by impairing the release of interleukin 1 and interleukin 2. Eur J Immunol. 1981; Aug; 11(8): 657-61.

19. Camargo P, Melnick P, Pirih F, TAkei H. Treatment of drug induced gingival enlargement: aesthetic and functional considerations. Peirodontol 2000. 2001; 73: 892-99.
20. Cardenas, M E., Hemenway C., Muir R S, YE R., Fieorotino D, Heitman, J Immunophilins interact with calcineurin in the absence of exogenous immunosuppressive ligands. EMBO J. 1994; 13: 5944-5957.
21. Carranza F.A, Hogan E.L. Carranza's Clinical Periodontology. 10th Ed. WB Saunders Company. 2006; Chapter 23 Gingival Enlargement.
22. Cather JC, Abramovits W, Menter A: Cyclosporine and tacroli-mus in dermatology. Dermatol Clin 2001; 19(1): 119-137.
23. Cebeci İ, Kantarcı A, Gurel N. Analysis of peripheral blood leukocytes in patients with cyclosporine A-induced gingival hyperplasia. J Periodontol 1998; 69: 1435 – 39.
24. Cole AA, Walters LM. Tartrate-resistant acid phosphatase in bone and cartilage following decalcification and cold-embedding in plastic. J Histochem Cyctochem.1987; 35: 203-209.
25. Coley C, Jarvis K, Hassell T. Efecct of cyclosporin A on human gingival fibroblasts in vitro. Journal of Dental Research 1986; 65: 353-58.
26. Costa, F.O., Ferreira, S.D., Cota, L.O.M., Costa, J.E., Aguiar, M.A. Prevalence, severity, and risk variables associated with gingival overgrowth in renal transplant subjects treated under tacrolimus or cyclosporin regimens. J. Periodontol 2006; 77: 969-975.
27. Culling CFA, Allison RT, Barr WT. Cellular Pathology Technique, Butterworths and Co Ltd, London.1985.
28. Cvetkovic M, Mann GN, Romero DF, Liang XG, Ma Y, Jee WS, Epstein S. The deleterious effects of long-term cyclosporine A, cyclosporine G, and FK506 on bone mıneral metabolısm in vivo. Transplantation. 1994; apr 27: 1231-7.
29. Dahllof G, Preber H, Eliasson S. Periodontal condition of epileptic adults treated long-term with phenytoin or carbamazepine. Epilepsia 1993; 34: 960-964
30. Dahllof G, Modeer T, Reinholt FP, Wikstrom B, Hjerpe A. Proteoglycans and glycosaminoglycans in phenytoin induced gingival overgrowth. J Periodont Res. 1986; 21: 13–21.
31. Daley TD, Wysocki GP, D Colin. Clinical and pharmacologic correlations in cyclosporine-induced gingival hyperplasia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1986; 62: 417-421.
32. Denizot Y, Dupuis F, Praloran V. Effects of platelet-activating factor on human T and B cells an overview. Res Immunol 1994; 145: 109-116.
33. Dill R, Miller E, Weil T. Phentoin increases gene expression for platelet derived growth factor-β chain in macrophages and monocytes. J Periodontol 1993;4: 141-58.
34. Duarte PM, Nogueira Filho GR, Sallum EA, de Toledo S, Sallum AW, Nociti Junior FH. The effect of an immunosuppressive therapy and its withdrawal on bone healing around titanium implants. A histometric study in rabbits. J Periodontol 2001; 10: 1391-7
35. Ellis, J.S., Seymour, R.A., Steele, J.G., Robertson, P., Butler, T.J., Thomason, J.M. Prevalance of gingival overgrowth induced by calcium channel blockers, a community- based study. J. Periodontol. 1999; 70: 63-67.

36. Emingil G, Çoker I, Atilla G, Hüseyinov A. Levels of leukotriene B4 and platelet activating factor in gingival crevicular fluid in renal transplant patients receiving cyclosporine A. J periodontol 2000; 71: 50 -7

37. Eshelard S, Hoyaux D, Hermans M. S100A8 and S100A9 calcium binding proteins localization within normal and cyclosporine A-induced overgrowth gingiva. Connect Tissue Res 2002; 43: 419-24

38. Fu E, Hsieh YD, Shen EC, Nieh S, Mao TK, Chiang CY. Cyclosporin-induced gingival overgrowth at the newly formed edentulous ridge in rats: a morphological and histometric evaluation. J Periodontol. 2001 Jul; 72(7): 889-94.

39. Gangliano N, Moscheni C, Dellava C. Effect of cyclosporin A on human gingival fibroblast collagen turnover in relation to the development of gingival overgrowth in vitro study. Biomed Pharmocother 2004; 58: 231-38

40. Genco R, Goldman F, Cohen M. Conteporary periodontics. The C. V. Mosby Company, 1990 chp: 21.

41. Glickman I. Glickman's Clinical Periodontology. 4th ed., WB Saunders Company, Philadelphia 88-115, 1972.

42. Gillett R, Cruchley A, Johnson NW. The nature of the inflammatory infiltrates in childhood gingivitis, juvenil periodontitis: Immunocytochemical studies using a monoclonal antibody to HLA Dr. J Clin Periodontol 1986; 13: 281–288.

43. Gupta AK. Adamiak A, Chow M. Tacrolimus: a review of its use for the management of dermatoses. J Eur Acad Dermatol Venereol 2002 Mar; 16(2), 100-14.

44. Hallmon W, Rossmann J. The role of drugs in the pathogenesis of gingival overgrowth. Periodontol 2000. 1999; 21: 176-96

45. Hassell T, Buchanas j, Cuchens M, Douglas R. Flurosence activated vital of sorting of human fibrobaslts subpopulations that bird cyclosporine A. J Dent Res 1998; 67 : 223.

46. Hefti, A.F., Eshenaur, A.E., Hassel, T.M., Stone, C. Gingival overgrowth in cyclosporine A treated multiple sclerosis patients. J. Periodontol 1994; 65: 744-749.

47. Heijl L, Sundin Y. Nitrendipine induced gingival overgroeth in dogs. J Periodontol 1989; 60:104-12.

48. İlgenli, T., Atilla, G. & Baylas, H. Effectiveness of periodontal therapy inpatients with drug-induced gingival over-growth. Long-term results. Journal of Periodontology 1999 ;70, 967–972.

49. Ingle ´s, E., Rossmann, J. A. & Caffesse, R. G. New clinical index for drug-inducedgingival overgrowth. Quintessence International 1999; 30: 467–473.

50. Ishida H, Kondoh T, Kataoka M, Nishikawa S, Nakagawa T, Morisaki I, Kido J, Oka T, Nagata T. Factors ınfluencing nifedipine-induced gingival overgrowth in rats. J Periodontol 1995; 66: 345–350

51. James A, Irwin R, Linden J. Gingival fibrobaslt response to cyclosporine A and transforming growth factor beta 1. J periodont Res 1998; 33: 40-8

52. James, J.A., Jamal, S., Hull, P.S., MacFarlane T.V., Campbell B.A.,Johnson, R.W., Short, C.D. Tacrolimus is not associated with gingival overgrowth in renal transplant patients. Journal of Clinical Periodontology 2001; 28: 848-852.

53. Kayaalp O. Tıbbi Farmakoloji. İmmün sistem bozuklukları ve immünomodülatör ilaçlar. Cilt 2, 9. Baskı, Hacettepe Taş Kitabevi 2000; 372-416.

54. Kitamura, K., Morisaki, I., Adachi, C., Kato, K., Mihara, J., Sobue, S, Hamayada, S. Gingival overgrowth induced by cyclosporin A in rats. Archives of Oral Biology 1990, 35: 483-486.

55. Khoori AH, Einollahi B, Ansari G, Moozch MB. The effect of cyclosporine with and without nifedipine on gingival overgrowth in renal transplant patients. J Can Dent Assoc 2003; 69(4): 236-241.

56. Lan CC, Yu HS, Wu CS et al. FK 506 inhibits tumour necrosis factor-alpha secretion in human keratinocytes via regulation of nuclear factor-kappaB. Br J Dermatol. 2005 Oct; 153(4): 725-32.

57. Lindhe J. Textbook of Clinical Periodontlogy. 1985; Chp: 10, 281-3.

58. Mariotti A. The extracelluler matrix of the periodontium: dynamic and interactive tissues. Periodontology 2000 1993; 3: 39–63.

59. Marshall RI, Bartold PM. A Clinical review of drug-induced gingival overgrowth. Aust Dent J 1999; 44: 219-232.

60. Matsson L, Goldberg P. Gingival inflammatory reaction in children at different ages. J Clin Periodontol 1985; 12: 98–103.

61. Maurer G. Metabolism of cyclosporin. Transplantation Proceedings,XVII (4 suppl) 1985;19-26.

62. Mc-Kaigg S, Kelly F, Shaw L. Investigation of the effects of the FK506 and cyclosporin on ginival overgrowth following pediatric liver tranplantion. Int J Paediatr Dent 2002; 12: 398-403.

63. Mihatsch Mj, Thiel G, Ryffel B. Morphologic diagnosis of cyclosporine nephrotoxicity. Seminars in Diagnostic Pathology 1998; 1: 104-121.

64. Modeer T, Wondimu B, Larsson E, Janzon B. Levels of CsA in saliva in children after oral administration of the drug in mixture or in capsule form. Scand J Dent Res 1992; 100: 366-70.

65. Morisaki I, Loyola-Rodriquez JP, Nagata T, Ishida H. Nifedipine induced gingival overgrowth in the presence or absence of gingival overgrowth in the rats. J Periodont Res 1993; 28: 396–403.

66. Morris, P.J. Böbrek Transplantasyonu. Temel Bilgiler ve Uygulama. 4. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri LTD. 1997; Bölüm 16: Yeni İmmunosupresif İlaçlar.

67. Nasr IS. Topical Tacrolimus in dermatology. Clin Exp Dermatol 2000 May; 25(3): 250-4.

68. Nassar CA, PO Nassar, DC Andia, MR Guimaraes, LC Spolidorio. The effects of up to 240 days of tacrolimus therapy on the gingival tissues of rats a morphological evaluation. Oral Diseases 2008; 14: 67–72.

69. Nemlander A, Ahonen J, Wiktorowicz K, von Willebrand E, Hekali R, Lalla M, Hayry P. Effect of cyclosporine on wound healing. Transplantation 1983 Jul; 36(1): 1-6.

70. Nery EB, Edson RG, Lee KK, Pruthi VK, Warson J. Prevalence of nifedipine-induced gingival hyperplasia. J Periodontol 1995; 66: 572–578.

71. Nghiem P: Topical immunomodulators: introducing old friends and a new ally, tacrolimus. J Am Acad Dermatol 2001; 44: 111-113.

72. Nishikawa S, Tada H, Hamasaki A, Kasahara S, Kido J, Nagata T, Ishida H, Wakano Y. Nifedipine-induced gingival hyperplasia: a clinical and in vitro study. J Periodontol 1991; 62: 30–35.

73. Nishikawa S, Nagata T, Morisaki I, Oka T, Ishida H. Pathogenesis of drug induced gingival overgrowth. A review of studies in the rat model. J Periodontol 1996; 67: 463-71.

74. Novak M.J. Carranza's Clinical Periodontology. 10th Ed. WB Saunders Company. Chapter 7. Classification of Diseases and Conditions Affecting the Periodontium 2006.

75. Nurmenniemi PK, Pernu HE, Laukkanen P, Knuuttila ML. Macrophagesubpopulations in gingival overgrowth induced by nifedipine and immunosuppressive medication. J Periodontol 2002; 73(11): 1323–1330.

76. Paul WE. Fundamental Immunology; New York; Raven Press.1984.

77. Prabhu A, Mehta DS. A morphologic comparison of gingival changes influenced by Cyclosporin and Tacrolimus in rats: Expreimental study. 2006; 77: 265-70.

78. Radwan-Oczko M, Boratynska M, Klinger M, Zietek M. Risk factors of gingival overgrowth in kidney transplant recipients treated with cyclosporine A. Ann Transplant. 2003; 8: 57-62.

79. Ramfjord S, Ash M. Periodontology and Periodontics: Modern Theory and Practice, Ishiyaku EuroAmerica Inc. Publishers. 1989 S: 146-47.

80. Rateit schak-Pluss EM, Hefti A, Lörtscher R, Thiel G. Initial observation that cyclosporin A induces gingival enlargement in man. J Clin Periodontol 1983; 10: 237–246.

81. Rees TD, Levine RA. Systemic drugs as a risk factor for periodontal disease initiation and progression. Compend Contin Educ Dent 1995; 16: 20-42

82. Reitamo S, Rissanen J, Remitz A et al. Tacrolimus ointment does not affect collagen synthesis; results of a single-center randomizad trial. J Invest Dermatol 1998; 111: 396-8.

83. Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology. 4th ed. London. Mosby. 1996.

84. Ruhl S, Seymour R, Thomasan J. Saivary proteins and cytokines in drug induced gingival overgrowth. J Dent Res 2004; 83: 322-26

85. Savage, N. W., Seymour, G. J. & Robinson,M. R. Cyclosporin-A-induced gingival enlargement. A case report. Journal of Periodontology 1987; 58: 475-480.

86. Seymour, R.A., Jacobs, D. J. Cyclosporin and the gingival tissues. Journal ofClinical Periodontology 1992; 19: 1–11.

87. Seymour R.A, Heasman P. Drugs, Diseases and the Periodontium. Oxford: Oxford University Press; 1992.

88. Seymour R.A, Thomason J, Ellis J. The pathogenesis of drug induced gingival overgrowth. J Clin Periodontol 1996; 23: 165-75

89. Seymour R.A, Ellis S. Thomason M. Risk factor for drud induced gingival overgrowth. J Clin Periodontol 1996; 23: 165-75

90. Seymour R.A., Heasman, P.A. Drugs and the periodontium. J. Clin. Periodontol 1998; 15: 1-16.

91. Seymour R.A, Ellis J.S, Thomason M. Risk factors for drug induced gingival overgroeth. J Clin Periodontol 2000; 27, 217-23

92. Shen EC, Fu E, Hsieh YD. Effects of cyclosporin A on dental alveolar bone: a histomorphometric study in rats. J Periodontol. 2001 May; 72(5): 659-65.

93. Shibiliy O, Stryhalski I. Cyclosporine and gingival enlargement. Periodontan Insıghts: 1997; 4-7

94. Sinha S, Kamath V, Arunodaya G, Taly R. Phenobarbitone induced ging,ival hyperplasia. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2002; 73: 601.

95. Smith QT, Wilson M.M, Germaine G.R, Pihlstrom B.L. Microbial flora and Clinical parameters in phenytoin associated gingival overgrowth. J Periodontal Res. 1983; 18:56

96. Soory M, Suchak A. Phenytoin mediated androgen metabolism in gingival fibroblasts. Effects of the antiandrogen finasteride and the alkaline phosphatase inhibitör levamisole. J Clin Periodontol 2002; 29: 955-60

97. Spolidorio, L.C., Spolidorio, D.M.P., Massucato E.M.S., Neppelenbroek K.H., Campanha, N.H., Sanches, M.H. Oral health in renal transplant recipients administered cyclosporin A or tacrolimus. Oral diseases. 2006; 12: 309-314.

98. Spolidorio LC, Merzel J, Villalba H, Vargas PA, Coletta RD, Almeida OP:Morphometric evaluation of gingival overgrowth and regression caused bycyclosporin in rats. J Periodont Res 2001; 36: 384-389.

99. Trackman P, Kantarcı A. Connective tissue metabolism and gingival overgrowth. Crit Rev Oral Biol Med 2004; 15: 165-75

100. Thomason J M, Kelly P J, Seymour R A. The distribution of gingival over-growth in organ transplant patients. Journal of Clinical Periodontology 1996; 23: 367–371.

101. Tuter G, Serdar M, Yalim A, Gurhan I, Balos S. Evalution of matriks metalloproteinase -1 and tissue inhibitor of metalloproteinas levels in gingival fibroblasts of cyclosporin A treated patients. J Periodontol 2002; 73: 1273-78

102. Vickers AEM, Fischer V,Connorsa S, et all. Cyclosporin A metabolism in human liver, kidney, and intestine slices. Drug Methabolism and Disposition 1992; 20: 802-809

103. Yamasaki A, Rose, G. G., Pinero, G. J. &Mahan, C. J. Ultrastructure offibroblasts in cyciosporin A-induced gingival hyperplasia. Journal of Oral Pathology 1987; 16: 129-134.

103. Wang CH, Salahudeen AK, McClain M, Whitehead J. Lipid peroxidation accompanies cyclosporin nephrotoxicity: Effects of vitamin E. Kidney İnternational 1995; 47: 927-34

104. Weinzweig N, Lukash F, Weinzweig J: Topical and systemic calcium channel blockers in the prevention and treatment of microvascular spasm in rat epigastric island skin flap model. Ann Plast Surg 1999; 42: 320-26

105. Wondimu B, Sandberg J, Modeer T. Gingival overgrowth in renal transplant patients administered cyclosporin A in mixture or in capsule form. A longitudinal study. Clinical Transplantation 1996; 10: 71-6

106. Woessner J. Matrix metailoproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. Faseh Journal 1991; 5: 2145-2154.

9. EKLER

9.1 EK-A: Etik Kurul Kararı

10. ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında İzmir'de doğdu. İlköğrenimini ve ortaöğrenimini Ergenekon İlköğretim Okulu'nda 1996'da, lise öğrenimini Meram Fen Lisesi'nde 1999 yılında tamamladı. Aynı yıl öğrenimine başladığı Ege Üniversitesi'nde 1 yıl ingilizce hazırlık okuyup Dişhekimliği Fakültesi'nden 2005 yılında mezun oldu. 2005 yılında Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji Anabilim Dalı'nda doktora programına başladı. Halen aynı Anabilim Dalında doktora öğrencisidir.