T.C
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ PEDODONTİ ANABİLİM DALI

FARKLI TOPİKAL DİŞ JELLERİ UYGULANAN İNSAN GİNGİVAL FİBROBLAST HÜCRELERİNİN IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α VE IL-10 SİTOKİN SEVİYELERİNİN İN-VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

Hazırlayan
Melike TIRAŞ

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL

Tez No: 30

2023 – AFYONKARAHİSAR

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ PEDODONTİ ANABİLİM DALI

FARKLI TOPİKAL DİŞ JELLERİ UYGULANAN İNSAN GİNGİVAL FİBROBLAST HÜCRELERİNİN IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α VE IL-10 SİTOKİN SEVİYELERİNİN İN-VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

Hazırlayan
Arş. Gör. Dt. Melike TIRAŞ
DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL

Bu çalışma Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi BAP Komisyonu tarafından 21.DUS.002 proje numarası ile desteklenmiştir.

2023-AFYONKARAHİSAR

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI

Çalışmamızın etik kurul onayı Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan alınmıştır (06.11.2020 tarihli 2020/472 sayılı karar). (EK-1) Çalışmamızda isim değişikliği olması nedeniyle Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan alınan 01.04.2022 tarihli 2022/213 sayılı karar ile Etik kurul belgesi güncellenmiştir. (EK-2)

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca her konuda yoluma ışık tutan, akademik bilgisi ve klinik tecrübesini her daim benimle paylaşan, emeğini ve desteğini her zaman hissettiğim ve hissedeceğime inandığım kıymetli tez danışman hocam Dr.Öğr.Üyesi Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini her daim benimle paylaşan değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Özgür DOĞAN, Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ÜNAL ve Dr. Öğr. Üyesi İsmail Haktan ÇELİK'e,

Tezimin deney aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle bana destek olan hocalarım Prof. Dr.Sefa ÇELİK, Öğr.Gör.Serkan ŞEN ve çalışma arkadaşım Arş.Gör.Rümeysa DUMAN'a,

Uzmanlık sürecim ile tezimin uygulama aşamasındaki bilgisi ve her daim dostluğu için Uzm.Dt.Sıdıka Beril FALAY CİVELEK'e,

Yolumun hiçbir zaman ayrılmayacağına inandığım Arş.Gör.Dt.Ayşenur TANRIKULU, Arş.Gör.Dt.Hatice TÜRKOĞLU, Uzm.Dt.Fatma Duygu DERTLİ, Arş.Gör.Dt.Sevilcan ÇELİK, Arş.Gör.Dt.Mahmud Selim PERÇİN'e,

Her zaman yanımda olan canım dostlarım Arş.Gör.Dt.Beyza TALU ve Furkan SAZ'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım Uzm.Dt.Edanur GÖKÇE MEYDAN'a, Uzm.Dt.Seher Gözde UĞUR'a, Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki bütün asistan arkadaşlarıma ve tüm yardımcı sağlık personeline,

Bana olan inançlarıyla, emekleri ve sevgileriyle her daim yanımda olan, desteklerini hiç esirgemeyen, ailem oldukları için her zaman gurur duyduğum babam Fahri TIRAŞ, annem Güldane TIRAŞ, ablalarım Pınar TIRAŞ ve Funda TUNA'ya, abim Abdullah TUNA'ya, canım yeğenlerim Defne ve Ömer'e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

FARKLI TOPİKAL DİŞ JELLERİ UYGULANAN İNSAN GİNGİVAL FİBROBLAST HÜCRELERİNİN IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α VE IL-10 SİTOKİN SEVİYELERİNİN İN-VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

Melike TIRAŞ

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi
Nisan 2023
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL

ÖZET

Amaç: Çalışmamızın amacı topikal diş jelleri uygulanan insan gingival fibroblast hücrelerinin IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α ve IL-10 sitokin seviyelerinin in-vitro olarak incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda HGF-1 hücrelerine uygulanan farklı topikal diş jellerinin MTT testi ile LD50 değerleri hesaplandı. Ardından topikal diş jeli uygulanmamış olan kontrol grubu ve topikal diş jellerinin LD50 dozu uygulanan HGF-1 hücrelerinin IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α ve IL-10 sitokin seviyelerinin ELISA yöntemiyle ölçülmesi için hücre lizatları oluşturuldu. Oluşturulan hücre lizatlarının total protein konsantrasyonu ölçüldü. Protein konsantrasyonu ölçümü ardından, sitokin seviyelerinin miktar tayini üretici firma talimatları doğrultusunda ELISA okuyucu ile yapıldı. Çalışma kapsamında elde edilen veriler GraphPad Prism version 8.0.1 (GraphPad Software, Inc., CA, A.B.D) programı kullanılarak analiz edildi.

Bulgular: Topikal diş jellerinin LD50 konsantrasyonlarının insan gingival fibroblast hücreleri üzerine etkisi kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında; IL-1ß seviyelerinin LH1 hariç diğer topikal diş jellerinin uygulandığı hücre gruplarında, IL-6 seviyelerinin HA3 hariç diğer topikal diş jellerinin uygulandığı hücre gruplarında, IL-8 seviyelerinin tüm topikal diş jeli uygulanan hücre gruplarında, TNF-α seviyelerinin HA1 hariç diğer topikal diş jellerinin uygulandığı hücre gruplarında, IL-10 seviyelerinin HA3 hariç diğer topikal diş jellerinin uygulandığı hücre gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde düşüş sergilediği tespit edilmiştir.($p<0,05$) Topikal diş jelleri içerik olarak değerlendirildiğinde, lidokain içeriğinin incelenen tüm sitokin seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde düşüşe yol açtığı bulunmuştur ($p<0,05$).

Sonuç: Çalışmamızda kullanılan lidokain, hyaluronik asit ve kolin salisilat içerikli diş jelleri genel olarak değerlendirildiğinde, inflamatuar süreci yöneten sitokinleri değişen oranlarla baskıladığı görülmüştür. Topikal diş jellerinin mevcut özellikleri göz önüne alınarak, farklı yaş grubundaki hastaların semptoma yönelik tedavilerinde endikasyon dahilinde ve doktor kontrolünde kullanımı önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Fibroblast, Hyaluronik asit, Kolin salisilat, Lidokain, Sitokin

IN-VITRO INVESTIGATION OF IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α AND IL-10 CYTOKINE LEVELS OF HUMAN GINGIVAL FIBROBLAST CELLS APPLYING DIFFERENT TOPICAL TEETHING GELS

Melike TIRAŞ

Afyonkarahisar Health Sciences University
Faculty of Dentistry Department of Pediatric Dentistry Specialization Thesis
April 2022
Supervisor: Assist.Prof. Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL

ABSTRACT

Objective: The aim of our in-vitro study was to investigate the cytokine levels of IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α and IL-10 in human gingival fibroblast cells treated with topical teething gels.

Materials and Methods: In our study, LD50 values of different topical teething gels applied to HGF-1 cells were calculated by MTT test. Then, cell lysates were prepared for the measurement of IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α and IL-10 cytokine levels by ELISA method in the control group without topical teething gel and HGF-1 cells treated with LD50 dose of topical teething gels. Total protein concentration of the cell lysates was measured. After protein concentration measurement, quantification of cytokine levels was performed with an ELISA reader in accordance with the manufacturer's instructions. The data obtained in the study were analyzed using GraphPad Prism version 8.0.1 (GraphPad Software, Inc., CA, USA).

Results: The effects of LD50 concentrations of teething gels on human gingival fibroblast cells compared to the control group were as shown; IL-1ß levels were significantly decreased in cell groups treated with teething gels except LH1, IL-6 levels were significantly decreased in cell groups treated with teething gels except HA3, IL-8 levels were significantly decreased in cell groups treated with all teething gels, TNF-α levels were significantly decreased in cell groups treated with teething gels except HA1, IL-10 levels were significantly decreased in cell groups treated with teething gels except HA3 ($p<0.05$). When teething gels were evaluated in terms of content, it was found that lidocaine content caused a statistically significant decrease in all cytokine levels compared to the control group ($p<0.05$).

Conclusion: When the topical teething gels containing lidocaine, hyaluronic acid and choline salicylate used in our study were evaluated in general, it was observed that they suppressed the cytokines governing the inflammatory process with varying rates. Considering the existing properties of topical teething gels, their use in symptomatic treatment of patients of different age groups is recommended within the indication and under the control of a physician.

Keywords: Fibroblast, Hyaluronic acid, Choline salicylate, Lidocaine, Cytokine

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI ..... **ii**

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ ..... **viii**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **x**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **xi**

1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**

2. GENEL BİLGİLER **3**

2.1.Diş Sürmesi 3
2.1.1. Diş Sürme Teorileri 5

2.2. Diş Sürme Semptomları 11
2.2.1. Lokal Semptomlar 11
2.2.2. Sistemik Semptomlar 13

2.3. Diş Sürmesi Sırasında Görülen Semptomların Azaltılmasına Yönelik Tedavi Yöntemleri 16
2.3.1. Diş Sürmesi Sırasında Görülen Semptomları Azaltmaya Yönelik Farmakolojik Olmayan Yöntemler 16
2.3.2. Diş Sürmesi Sırasında Görülen Semptomları Azaltmaya Yönelik Farmakolojik Yöntemler 17

2.4. Sitokinler 22
2.4.1. IL-1ß 23
2.4.2. IL-6 24
2.4.3. IL-8 25
2.4.4. IL-10 26
2.4.5. TNF-α 26

2.5. Sitokin Seviyesinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler 28
2.5.1. ELISA Yöntemi 29

3. GEREÇ VE YÖNTEM **30**

3.1. Hücre Kültürünün Hazırlanması 32

3.2. Çalışmada Kullanılacak Olan Diş Jellerinin Hazırlanması, Uygulanması ve MTT Testi 37
3.2.1. Çalışmada Kullanılacak Olan Diş Jelleri Preparatlarının Hazırlanması 37
3.2.2. Diş Jeli Preparatlarının Uygulanması 38
3.2.3. MTT Testi 38
3.3. ELISA Yöntemi ile Proinflamatuar/Antiinflamatuar Sitokinlerin Protein Düzeylerinin Tayini 40
3.3.1. Lizatların Hazırlanışı 40
3.3.2. Bikinkoninik Asit (BCA) Protein Ölçüm Yöntemi ile Total Protein Tayini 42
3.3.3. ELISA Yöntemi ile IL-1β, IL-6, IL-8, TNF- α ve IL-10 Sitokinlerinin Miktar Tayini 45
3.3.4. Test Prosedürü 48
3.4. İstatistiksel Analizler 52
4. BULGULAR 53
4.1. Sitokin Seviyelerinin Ölçülmesi İçin Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanan Diş Jellerinin Sitotoksisite Değerleri 53
4.2. ELISA Yöntemi ile Belirlenen Proinflamatuar/Antiinflamatuar Sitokinlerin Analizi 54
4.2.1. IL-1β Bulguları 54
4.2.2. IL-6 Bulguları 56
4.2.3. IL-8 Bulguları 58
4.2.4. TNF-α bulguları 60
4.2.5. IL-10 Bulguları 62
4.2.6. Topikal Diş Jellerinin İçeriklerine Göre Sitokin Seviyelerinin Karşılaştırılması 64
5. TARTIŞMA 70
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 83
7. KAYNAKLAR 86
EKLER 110

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

EGF	Epidermal büyüme faktörü
TGF-α	Transforme edici büyüme faktörü-α
CSF-1	Koloni uyarıcı faktör-1
NF-κB	Nükleer faktör kappa transkripsiyon faktörü
ODF	Osteoklast farklılaşma faktörü
IL-1α	İnterlökin-1α
IL-1β	İnterlökin-1β
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8
IL-10	İnterlökin-10
TNF-α	Tümör nekroz faktörü
OPG	Osteoprotegerin
IFN	İnterferon
GF	Polipeptit büyüme faktörleri
HHV-6	İnsan Herpes Virüsü-6
AAPD	Amerikan Pediatrik Diş Hekimliği Akademisi
FGF	Fibroblast büyüme faktör
G-CSF	Granülosit uyarıcı faktör
IGF	İnsulin benzeri büyüme faktörü
MCP	Monosit kemotaktik protein
MIP	Makrofaj inflamatuar protein
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktör
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktör
RANKL	Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa-B ligand
PGE2	Prostoglandin E2
IgG	İmmünglobulin G
MMP	Matriks metalloproteinaz
ELISA	Enzime bağlı immünosorban testi
ATCC	Amerikan tipi kültür koleksiyonu

HGF-1	İnsan primer gingival fibroblast hücreleri
ml	Mililitre
DMEM	Dulbecco’s Modified Eagle Medium
FBS	Fetal Bovine Serum
rpm	Dakikadaki devir sayısı
DMSO	Dimetil sülfoksit
cm^2	Santimetrekare
EDTA	Etildiamin tetraasetik asit
µl	Mikrolitre
gr	Gram
MTT	3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolyum bromür
PBS	Phosphate buffered saline
nm	Nanometre
LD50	Letal doz 50
BCA	Bikinkoninik asit
L	Litre
pg	Pikogram
ng	Nanogram
MAPK	Mitojenle aktive edilen protein kinaz
®	Tescilli
°C	Santigrat derece

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1: Bebeklerde diş sürme semptomları ve semptomlara yönelik tedaviler hakkında 2000-2018 yılları arasında yapılan çalışmalar

Tablo 2.2: Sitokin grupları

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan topikal diş jelleri

Tablo 3.2: BCA standartları

Tablo 3.3: IL-1β standart çözeltileri

Tablo 3.4: IL-6 standart çözeltileri

Tablo 3.5: IL-8 standart çözeltileri

Tablo 3.6: TNF-α standart çözeltileri

Tablo 3.7: IL-10 standart çözeltileri

Tablo 4.1: Topikal diş jeli gruplarına ait IL-1β bulguları

Tablo 4.2: Topikal diş jeli uygulanan grupların kontrol grubuna göre IL-1β bulguları açısından değerlendirilmesi

Tablo 4.3: Topikal diş jeli gruplarına ait IL-6 bulguları

Tablo 4.4: Topikal diş jeli uygulanan grupların kontrol grubuna göre IL-6 bulguları açısından değerlendirilmesi

Tablo 4.5: Topikal diş jeli gruplarına ait IL-8 bulguları

Tablo 4.6: Topikal diş jeli uygulanan grupların kontrol grubuna göre IL-8 bulguları açısından değerlendirilmesi

Tablo 4.7: Topikal diş jeli gruplarına ait TNF-α bulguları

Tablo 4.8: Topikal diş jeli uygulanan grupların kontrol grubuna göre TNF-α bulguları açısından değerlendirilmesi

Tablo 4.9: Topikal diş jeli gruplarına ait IL-10 bulguları

Tablo 4.10: Topikal diş jeli uygulanan grupların kontrol grubuna göre IL-10 bulguları açısından değerlendirilmesi

Tablo 4.11: HGF-1 hücrelerinin sitokin seviyelerinin topikal diş jellerinin içeriklerine göre değerlendirilmesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Dental foliküle alınan mononükleer hücrelerin füzyonunu teşvik edebilecek olası moleküler sinyal kaskadı

Şekil 3.1: İnsan primer gingival fibroblast hücreleri (HGF-1)

Şekil 3.2: HGF-1 için hazırlanan özel besi yeri

Şekil 3.3: Santrifüj işlemi

Şekil 3.4: Ters mikroskopta incelenen 25 cm2'lik flask

Şekil 3.5: İnkübatöre alınan flask

Şekil 3.6: Flask tabanına tutunan HGF-1 hücreleri

Şekil 3.7: Falkon tüpteki sıvı kısmın uzaklaştırılması

Şekil 3.8: Pasajlama işlemi için kullanılan 75 cm^2'lik flasklar

Şekil 3.9: Mikroplakalara hücre ekimi

Şekil 3.10: Diş jelleri için hazırlanan ana stoklar

Şekil 3.11: Spektrofotometreye yerleştirilen 96 kuyucuklu mikroplaka

Şekil 3.12: Hücre lizatlarının hazırlanması

Şekil 3.13: Ham lizatların santrifüj işlemi

Şekil 3.14: Muhafaza edilmek üzere hazırlanan hücre lizatı içerikli ependorflar

Şekil 3.15: BCA Protein ölçüm kitine ait Reaktif A ve Reaktif B

Şekil 3.16: BCA standartlarının hazırlanışı

Şekil 3.17: Total protein tayini için ELISA mikroplaka okuyucuya alınan 96 kuyucuklu mikroplaka

Şekil 3.18: ELISA ölçümleri için kullanılacak olan test reaktifleri

Şekil 3.19: Sitokin kaplı strip mikroplakalar

Şekil 3.20: Yıkama tamponu ile yıkanan mikroplakalar

Şekil 3.21: Otomatik yıkayıcıya alınan mikroplakalar

Şekil 3.22: Durdurma solüsyonu sonrası mavi-sarı renk geçişi

Şekil 3.23: Kuyucukların optik dansitelerinin belirlenmesi

Şekil 3.24: IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α ve IL-10 sitokinlerinin mikroplakalarına ait görüntüler
Şekil 4.1: Topikal diş jellerine ait sitokin seviyelerinin ölçüleceği LD50 konsantrasyonları
Şekil 4.2: Gruplar arası IL-1β bulgularının grafiksel gösterimi
Şekil 4.3: Gruplar arası IL-6 bulgularının grafiksel gösterimi
Şekil 4.4: Gruplar arası IL-8 bulgularının grafiksel gösterimi
Şekil 4.5: Gruplar arası TNF-α bulgularının grafiksel gösterimi
Şekil 4.6: Gruplar arası IL-10 bulgularının grafiksel gösterimi
Şekil 4.7: Topikal diş jeli içeriklerinin IL-1β sitokin seviyelerinin grafiksel gösterimi
Şekil 4.8: Topikal diş jeli içeriklerinin IL-6 sitokin seviyelerinin grafiksel gösterimi
Şekil 4.9: Topikal diş jeli içeriklerinin IL-8 sitokin seviyelerinin grafiksel gösterimi
Şekil 4.10: Topikal diş jeli içeriklerinin TNF-α sitokin seviyelerinin grafiksel gösterimi

FARKLI TOPİKAL DİŞ JELLERİ UYGULANAN İNSAN GİNGİVAL FİBROBLAST HÜCRELERİNİN IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α VE IL-10 SİTOKİN SEVİYELERİNİN İN-VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Topikal diş jelleri, ağız içi lezyonlarda ağrının azaltılması, iyileşme sürecinin hızlandırılması, periodontal doku hastalıklarının tedavisi ve bebeklerde diş sürme döneminde görülen diş eti inflamasyonu gibi birçok oral mukoza hastalıklarında kullanılmaktadır. Farklı patolojik ve fizyolojik durumlarda kullanılan topikal diş jelleri, yüksek su içeriklerine sahip olmaları, mukozal irritasyon oluşturmamalarının yanı sıra, oral mukozaya kolay uygulanabilmesi, mukozada direkt etki gösterebilmesi ve kolay dağılabilmesi gibi özelliklerinden dolayı sıklıkla tercih edilmektedir (1–5).

Farklı yaş gruplarında kullanılan topikal diş jelleri, özellikle 6 aydan küçük bebeklerde parasetamol türevi ajanlardan sonra en sık kullanılan ilaç olarak bildirilmiştir (6). Piyasada bulunan ticari topikal diş jeli preparatlarının genellikle hyaluronik asit, lidokain hidroklorür ve kolin salisilat gibi etken maddelere sahip değişken formülasyonlarda olduğu görülmüştür. Bu etken maddelerin, analjezik, anestezik ve anti-inflamatuar etkileri sayesinde oral mukozadaki ve diş etindeki lokal semptomları giderdiği düşünülmektedir. Ancak, çocuklar için güvenli ve etkili tedavi sağlamak için her açıdan yapılan birçok girişime rağmen, çocukluk çağında kullanılan ilaçların güvenliği ve etkinliği konusunda bilgi eksikliği bulunmaktadır (7–10).

Tedavi amacıyla topikal diş jellerinin uygulandığı diş eti inflamasyonu gibi lokal semptomlar ve dokuyu korumaya yönelik gelişen fizyolojik aktiviteler, epitelyal hücreler, gingival fibroblastlar ve diş etine infiltre olan immün hücrelerden sentezlenen sitokinler tarafından düzenlenmektedir (11–15). Ancak, ulaşılabilir mevcut literatürde topikal diş

jellerinin, diş eti inflamasyonunda aktif rol oynayan sitokinler olan IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α ve IL-10'un üzerindeki etkinliğini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu doğrultuda çalışmamızda, topikal diş jelleri uygulanan insan gingival fibroblast hücrelerinin IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α ve IL-10 sitokin seviyelerinin in-vitro olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Diş Sürmesi

Diş sürmesi, dişlerin çene içinden ağız boşluğunda fonksiyonel kapanıştaki konumlarına hareketinin fizyolojik sürecidir (16). Bu süreç ortalama 6 aylıkken başlar ve lokal iltihabi semptomlara yol açabileceği gibi bebek ve çocukların genel sağlığında da belirti ve bulgulara neden olabilir (17). Carlson (18) radyografik incelemeler sonucunda diş sürmesiyle ilgili 5 görüş sunmuştur. Buna göre;

1. Diş sürmesi, dişin kronunun oluşumunun ardından başlamaktadır.

2. Dişlerin kök oluşumu, bazal kemik içerisinde ve kronda hareket meydana gelmeden önce başlamaktadır.

3. Dişlerdeki kök büyümesinin önemli bir kısmı, kapanış öncesi sürme aşamasında meydana gelmektedir.

4. Kök gelişimi bazal kemik içerisinde tamamlanmaktadır.

5. Diş sürmesi, yaşam boyu devam eden, yavaş gelişim gösteren ve dentoalveolar yapının büyümesine bağlı olarak gelişen bir süreçtir.

Diş sürmesi 5 aşamada incelenmektedir. Bu aşamalar; sürme öncesi hareketler, kemik içi sürme, mukozal penetrasyon, oklüzyon öncesi sürme ve oklüzyon sonrası sürmedir (19).

Sürme öncesi hareket:

Dişler, kron oluşumu sırasında kemik içerisinde aynı konumda bulunmaktadır ancak, dişlerin aktif sürme hareketi öncesinde ufak hareketlerinin olduğu gözlenmiştir (18,20). Bu hareketlerin hem diş sürmesi için gereken foliküler olaylardan hem de çenelerin büyüme ve gelişimine bağlı bölgesel farklılıklardan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (21).

Kemik içi sürme:

Dişlerde sürme hareketi, kök oluşumuyla başlayıp, dişin sabit bulunduğu konumdan dişin kapanışa geleceği konuma doğru hareketiyle devam etmektedir (22). Sürme hareketi, dişin sürme yolu boyunca hareketini sağlayacak kuvvete ve sürme yolunda bulunan kemiğin süt dişi germi tarafından uzaklaştırılmasına bağlıdır. Süt dişi germinin kök ucundaki hücre artışının dişlerin sürmesi için kuvvet oluşturduğu düşünülse de, kök ucunun kesildiği durumlarda da diş sürmesinin devam ettiği görülmüştür (23). Dişlerin sürme yolu, osteoklastik hareketler sonucu oluşturulmaktadır ancak, osteoklastik harekete sebep olan ve sürme yolunu oluşturan asıl mekanizma tam olarak tespit edilememiştir (24).

Mukozal penetrasyon:

Dişlerin tüberküllerinin veya insizallerinin, arktaki konumlarına ulaşmasıyla, sürme yolunun oluşumu tamamlanmaktadır ve diş sürmesi bu aşamadan sonra hız kazanmaktadır. Sürmekte olan diş, diş eti epitel yüzeyine ulaştığı zamanda mine epitelinde kalınlaşma ve değişim meydana gelmekte ve mine epiteliyle diş eti epiteli birleşmektedir (25). Mukoza penetrasyonunun öncesinde salınan mine matriks proteinlerinin de diş sürmesinin semptomlarına sebep olduğu düşünülmektedir (26).

Oklüzyon öncesi sürme:

Dişlerin mukoza penetrasyonundan sonra, oklüzyon öncesi sürme aşamasında da kök gelişimi devam etmektedir. Dentoalveolar yapının büyümeye ve gelişmeye devam etmesi sebebiyle, dişin sürmeye devam edebilmesi için normal büyüme miktarından daha fazla bir büyüme sergilemesi gerekmektedir (27).

Oklüzyon sonrası sürme:

Dişler oklüzyon düzlemine ulaştığında, sürme hızı diğer aşamalara göre belirgin derecede düşmektedir ancak, diş sürmesi yaşam boyu devam eden bir süreçtir (18). Yaşam boyu diş sürmesinin devam etmesine farklı faktörlerin sebep olduğu düşünülmektedir. Bu faktörler arasında, oklüzyonu sağlamaya eğilim, oklüzyon düzlemini ve dikey boyutu

koruma çabası, fonksiyonel kemik deformitelerinin meydana gelişi ve doğrudan oklüzal kuvvetlerin olduğu düşünülmektedir (28).

2.1.1. Diş Sürme Teorileri

2.1.1.1. Kök Gelişim Teorisi

Kök gelişim teorisine göre, diş sürme dönemi boyunca diş köklerinin uzaması ve gelişmesi, diş sürmesi için gereken kuvveti oluşturmaktadır (29,30). Bu teorinin aksine, insan, köpek, maymun ve kemirgen dişlerinin incelendiği farklı çalışmalarda kökü bulunmayan dişlerin de sürdüğü tespit edilmiştir (31,32). Aynı zamanda, genetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak kök formasyonu bozulan çocuklarda da kök gelişimi olmayan kronların sürmeye devam ettiği görülmüştür (29,30).

Cahill ve Marks (33) tarafından yapılan köpeklerde gelişimi devam eden premolarların köklerinin kesildiği bir çalışmada ise, dişler normal sürme fonksiyonları göstermiştir. Bir başka çalışmada, diş germlerine ait yapılar çıkarılıp, krona ait yapılar akril ile değiştirilmiştir. Bu durumda, diş sürmesinin gerçekleşmediği ve diş folikülünde inflamatuar değişikliklerin olduğu gözlenmiştir (34). Yapılan bu çalışmalar genel olarak değerlendirildiğinde, kök gelişiminin dişlerin sürmesi için gerekli tek faktör olmadığı sonucuna varılmıştır (19,33,34).

2.1.1.2. Periodontal Ligament Teorisi

Periodontal ligament teorisine göre, fibroblastlar, periodontal ligamentlerin kasılmasını sağlar ve dişlerin sürmesi için gereken kuvveti oluşturmaktadır. Tavşanlarda ve farelerde yapılan çalışmalarda, diş kökleri enine kesildiğinde, dişlerin distal kısımlarının sürmeye devam ettiği görülmüştür (35,36). Ancak çalışmaların, sürekli diş çıkaran kemirgenler üzerinde yapılmış olması insan fizyolojisiyle uyum göstermemektedir (37). Aynı zamanda, dişlerin osteopetrotik mutasyonlarında periodontal ligamentin bulunmasına rağmen dişlerin sürmediği görülmüştür (38). Buna karşın, periodontal ligamentin bulunmadığı Tip I dentin displazisinde ise dişlerde sürmenin devam ettiği bildirilmiştir (39,40). Genel olarak literatürdeki çalışmalar

incelendiğinde, diş sürmesi periodontal ligament teorisi tarafından net olarak açıklanamamaktadır (33,41).

2.1.1.3. Diş Sürmesinin Hormonal Kontrol Mekanizması

Diş sürmesinin hormonal mekanizmalardan etkilendiği düşünülmektedir. Hipofiz bezinden salgılanan büyüme hormonu ve tiroid bezinden salgılanan hormonların diş sürmesi üzerinde etkilerinin değerlendirildiği çalışmalar mevcuttur (42–44).

Tiroidektomi yapılmış olan fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, tiroid bezi eksikliğinin diş sürmesinde gecikmelere ve dental yapılarda deformitelere sebep olduğu tespit edilmiştir (43,44).

Büyüme hormonu eksikliğine bağlı büyüme geriliği olan ve genetik olarak kısa boylu olan çocukların diş sürmesinde gecikmelerin olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (45–47). Ancak başka nedenlerle büyüme gecikmelerinin görüldüğü çocuklarda normal diş gelişiminin olduğu görülmüştür (20). Büyüme hormonu ve tiroid hormonlarının diş sürmesi üzerinde sinerjistik etki gösterdiği düşünülmektedir. Büyüme hormonu, büyüme sürecinin kontrolünü sağlarken, tiroid hormonu ise farklılaşma ve gelişim üzerinde etkili bulunmuştur (44).

2.1.1.4. Dental Folikül Teorisi

Kranial nöral krest mezenşiminden köken alan dental folikül, diş germlerini çevreleyen bir bağ dokusudur (48). Cahill ve Marks'ın (33) köpeklerin premolar dişlerinin dental folikülünü çıkardıkları çalışmada, dişlerde sürmenin engellendiği görülmüştür. Başka bir çalışmada, dental folikülün bırakılarak diş germinin yapay diş ile değiştirilmesine rağmen diş sürmesinin devam ettiği tespit edilmiştir (34).

Dişlerin intraosseoz sürme aşamasında kemik rezorpsiyonu ve apozisyonunu dental folikülün başlattığı ve düzenlediği düşünülmektedir (41). Dental folikül, mononükleer hücrelerin diş sürmesi sırasında bölgeye göç etmesini sağlayan gerekli bir faktör olarak da görevlidir ve bu hücreler bölgede osteoklastlara dönüşmektedir. Dental folikülün alveolar kemik ve diş germi arasında bulunması sebebiyle, diş sürmesinin

hücresel olaylarında da görev almaktadır. Dental folikül, osteoklastik aktivite üzerinde etkisinin yanı sıra dental yapılardan aldığı sinyalleri de ilgili noktalara iletebilmektedir (48).

Yapılan çalışmalarda, diş sürmesi için dental folikülün gerekli olduğu ortaya konmuş, diş pulpası ya da kökünün olmadığı durumlarda da sürmenin devam etmiş olmasının bu teoriyi desteklediği görülmüştür (33,34,41).

2.1.1.5. Hidrostatik Basınç Teorisi

Hidrostatik basınç teorisine göre diş sürmesi için gerekli olan kuvveti, sürmekte olan diş kronunu çevreleyen dokular ile apikal boyutu arasındaki hidrostatik basınç farkı oluşturmaktadır (49). van Hassel ve McMinn (50) tarafından yapılan çalışmada, köpeklerin sürmekte olan dişlerinin apikalindeki doku basıncının oklüzal basınçtan daha büyük olduğu ve bu durumun diş sürmesi için gereken kuvveti oluşturduğu düşünülmüştür ancak, diş sürme kuvvetinin büyüklüğü ile sürme hızı arasında hiçbir ilişki gösterilememiştir. Bu teoriyi destekleyen çalışmanın aksine, doku basınçları farmakolojik olarak değiştirildiğinde diş sürme hızında değişikliklerin olduğu da tespit edilmiştir (51).

2.1.1.6. Kemikte Yeniden Şekillenme Teorisi

Kemikte yeniden şekillenme teorisine göre, kemik rezorpsiyonu diş germinin koronalinde gerçekleşirken, kemik apozisyonu diş germinin apikalinde meydana gelmektedir. Rezorpsiyon ve apozisyon için gereken osteoklast ve osteoblastların kaynağı ise dental foliküldür (52,53). Kemik rezorpsiyonunu yavaşlatan bifosfonat ve pamidronat enjeksiyonu yapılan farelerde, molar dişlerin sürmesinde gecikmeler yaşandığının görülmesi, kemik rezorpsiyonunun diş sürmesi için gerekli olduğunu ortaya koymuştur (54). Aynı şekilde, kemik formasyonunun olmadığı durumlarda da dişlerde sürmenin kesintiye uğradığı görülmüştür (55,56).

Dişlerin sürme sırasında, kemiğe direkt ve kesintisiz olarak basınç uygulayarak sürme yolunu oluşturduğu da düşünülmektedir. Ancak, dişlerin kemik içerisinde hareketsiz bırakılarak, kemikte basınç uygulaması engellendiğinde de dişlerde sürme yolunun oluştuğu gözlenmiştir (24). Bu durum, diş sürmesinde kemikte görülen

rezorpsiyon ve apozisyonunun genetik olarak kontrol edildiğini, mekanik olarak bir düzenleme söz konusu olmadığını göstermiştir (48).

2.1.1.7. Diş Sürmesinin Moleküler Mekanizması

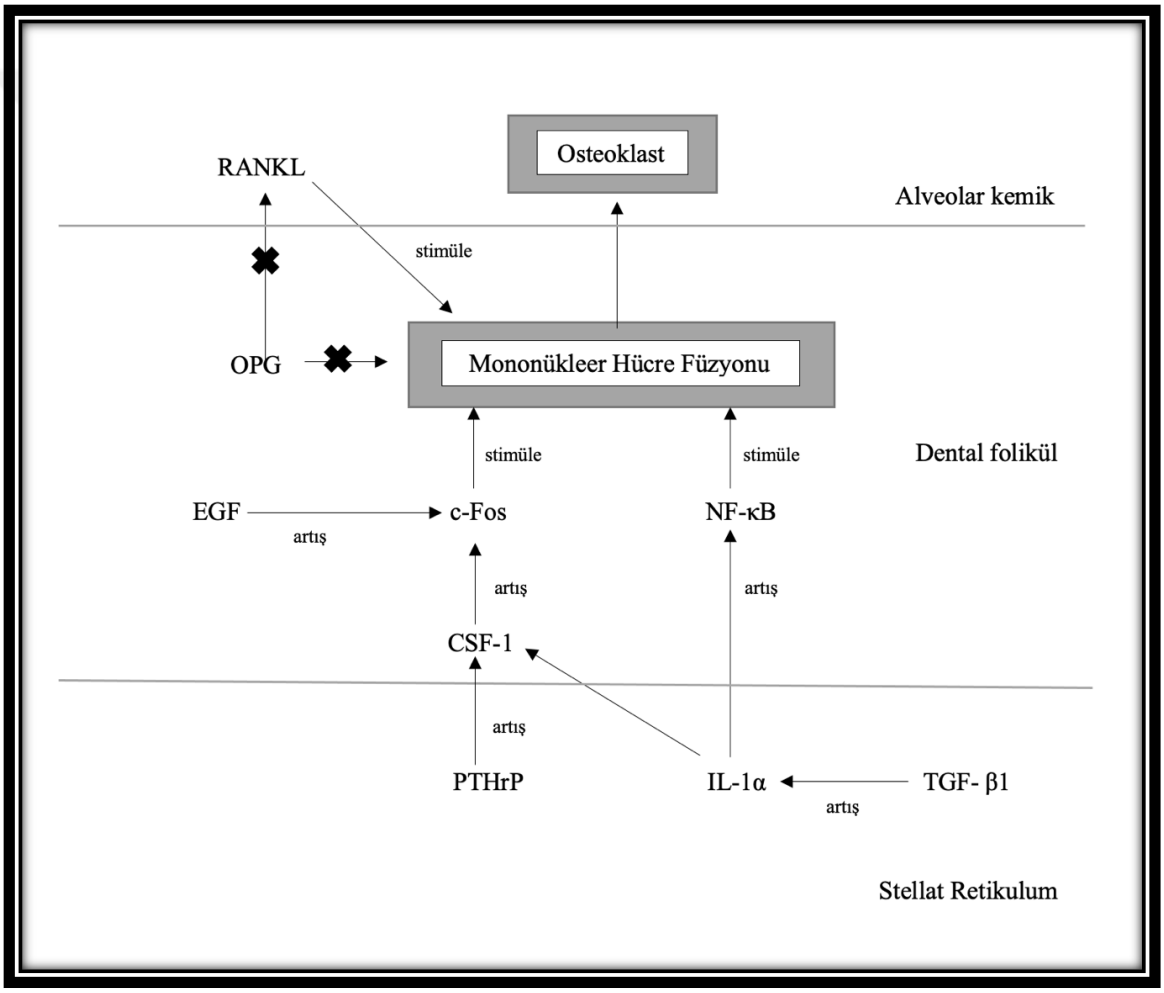
Diş sürmesi, belirli bir zaman aralığında meydana gelen lokalize ve bağımsız bir olaydır. Diş sürmesini başlatan moleküller, moleküllerin lokalizasyonu ve sürmenin hücresel olayları her diş için bağımsızdır (48). Diş sürmesi için gerekli olan moleküller, 1962 yılında Cohen (57) tarafından Epidermal büyüme faktörünün (EGF) izole edilmesi ve kemirgenlere enjekte edilmesiyle kemirgenlerin kesici dişlerinde sürmenin hızlanmasıyla keşfedilmeye başlanmıştır. Farelerde kesici dişlerin sürmesinin, Transforme edici büyüme faktörü-α (TGF-α)'yı etkileyen başka bir büyüme faktörü tarafından da hızlandırıldığı tespit edilmiştir (58). TGF-α ve EGF'nin aynı reseptöre bağlandığı göz önünde bulundurulduğunda, diş sürmesi üzerinde benzer etkiye sahip oldukları düşünülmüştür (59–61). Ancak, TGF-α geni bulunmayan farelerde, diş sürmesinin devam etmesi EGF'nin tek başına diş sürmesini başlatabilecek bir molekül olduğunu da düşündürmektedir (62).

Sürmemiş dişlere sahip osteopetrotik farelerde fonksiyonel Koloni uyarıcı faktör-1 (CSF-1) eksikliği bulunmaktadır. Bu farelere CSF-1 molekülünün enjekte edilmesiyle, farelerde dişlerin sürmeye başladığı görülmüştür (63–65). Diş sürmesi üzerindeki EGF ve CSF-1 moleküllerinin doğrudan etkilerini değerlendiren bir başka çalışmada ise, EGF kesici dişlerin sürmesini hızlandırmıştır ancak, EGF'nin molar dişlerin sürmesinde etkisi olmadığı tespit edilmiştir. CSF-1 molekülü ise EGF molekülünün aksine molar dişlerin sürmesini etkilemiştir. CSF-1 moleküllerinin diş folikülü üzerindeki mononükleer ve osteoklast artış etkisini, EGF molekülü gösterememiştir (66).

Son yıllarda nakavt fareler üzerinde yapılan deneyler, diş sürmesi için gereken moleküller hakkında daha fazla bilgi sağlamıştır. Bu çalışmalarda, osteoklastlar üzerinde etkili olan genlerin eksikliğinde dişlerin sürmediği gözlenmiştir. Nükleer faktör kappa B1 (NF-κB1) ve Nükleer faktör kappa B2 (NF-κB2) transkripsiyon faktörü genlerinden ya da c-fos transkripsiyon faktörü geninden yoksun farelerde osteoklastlar bulunmamaktadır ve buna bağlı olarak dişlerin süremediği tespit edilmiştir (67–69). Osteoklast oluşumu ve

aktivasyonu için gerekli bir gen olan Osteoklast farklılaşma faktörü (ODF) geni bulunmayan farelerde de dişlerin sürmediği görülmüştür (70).

Diş sürmesinde rol oynayan bir diğer molekül olan İnterlökin-1α (IL-1α) enjeksiyonunun, kesici ve molar dişlerinde sürme gecikmeleri olan farelerde diş sürmesini iki gün hızlandırdığı da bildirilmiştir (71). Osteoklastların inhibisyonu ve aktivasyonuna ilişkin şekil 2.1' de gösterilmiştir.



Şekil 2.1: Dental foliküle alınan mononükleer hücrelerin füzyonunu teşvik edebilecek olası moleküler sinyal kaskadı (Çarpı işaretli oklar gen ifadesinin engellenmesini, diğer oklar gen ifadesinin artmasını veya hücre füzyonunun stimülasyonu yansıtır.)

2.1.1.8. Diş Sürmesinde Güncel Yaklaşımlar

Geçmişten günümüze, diş sürmesine yönelik çalışmalar deneysel olarak hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalardır (18,23,33,34,37,44). Hayvanların anatomisi ve fizyolojisinin insanlardan farklı olması ve etik değerler sebebiyle diş sürmesine dair insanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmaların kısıtlılık göstermesi nedeniyle insanlarda diş sürmesi tam olarak açıklanamamaktadır (72).

Diş sürmesine dair güncel yaklaşımlar, insan dişleri ve çenelerin doğum öncesi ve sonrası histolojik olarak incelenmesiyle elde edilen bilgilerin kombinasyonuyla oluşmaktadır. Bu bilgilere, hem sağlıklı hem de genetik farklılık gösteren patolojik fetüslerin incelenmesiyle ulaşılmıştır (72). Yeni bilgilerin ışığında gelişen güncel hipotezde üç mekanizma bulunmaktadır;

1.Diş sürme yolunda boşluk: Dental folikülün ,üzerinde bulunan kemiği rezorbe etmesiyle dişin sürmesi için gereken sürme yolu oluşmaktadır. Bu süreçteki moleküler süreç ektoderm tarafından yürütülmektedir (72).

2.Diş folikülünün altındaki basınç: Diş kök membranının glanduler membran gibi fonksiyon görmesi ve membranın innervasyonu sebebiyle kök yüzeyinde, periodontal membranda ve pulpa dokusunda basınç oluşabilmektedir (73,74). Bu basınç, dişin sürmesi için gereken kuvveti oluşturmaktadır (75).

3.Periodontal membranın uyum kapasitesi: Periodontal membranın uyum ve yeniden organize olabilme kapasitesi dişlerin sürmesi için gereken bir faktördür. Periodonsiyumun köke yakın olan iç tabakasında meydana gelen hücre nekrozu ve apopitoz mekanizmasının, periodontal membranın yeniden organize olabilme yeteneği sayesinde oluştuğu düşünülmektedir. Hem süt hem de daimi dişlerin sürme yolunda apopitoz mekanizmalarının gerçekleştiği bildirilmiştir (76).

Teorisel olarak, dişin apikal bölgesinde gelişen basınç, periodontal membranı devamlı olarak adaptasyona sevk ederek dişin sürme hareketini meydana getirmektedir. Dental folikülün aktif hareketi, folikülün üzerindeki kemiği rezorbe etmektedir. Bu bağlamda, kron folikülü, periodontal membran ve dişin apikal bölgesi diş sürmesi sırasında etkileşimde olan yapılardır. Apikaldeki basıncın periodontal membranda

değişikliğe yol açması ve basıncın kron folikülünü etkileyerek kemikte rezorpsiyona yol açabileceği düşünülmektedir (77).

2.2. Diş Sürme Semptomları

Bebeklerde süt dişlenme dönemi, 4-10. aylarda süt kesici dişlerin sürmesiyle başlayıp, 30-36. aylarda süt 2.molar dişlerin sürmesiyle sonlanmaktadır (78). Süt dişlerinin sürme süreci enfeksiyon, inflamasyon, travma ve iyileşme dönemlerinden oluşmaktadır. Süt dişlenme dönemi, genetik faktörlerden daha çok çevresel faktörlerden etkilenilen bir dönemdir (79).

Geçmiş zamanlarda, Hipokrat, Celsus, Aristoteles ve Homer diş çıkarma sürecini önemli morbidite ile ilişkilendirmiştir (80). On sekizinci ve on dokuzuncu yüzyıllarda ise bebeklerde görülen ölümün en büyük nedeninin diş çıkarma olduğu algısına rağmen, diş çıkarmanın ölümcül bir duruma yol açmayacağını öne süren görüşler de mevcuttur (81,82). Yirminci yüzyıldan itibaren ise bu görüş, diş çıkarma döneminin ciddi sistemik hastalıklarla bir ilgisinin olmadığı ile yer değiştirmiştir (82).

Günümüzde ise, lokal semptomlar diş çıkarma dönemi ile ilişkilendirilirken, sistemik semptomların ilişkisi tartışmalıdır. Süt dişlenme döneminde bebeklerde diş etlerinde inflamasyon, salya artışı, ısırma isteğinde artış gibi lokal semptomlar görülürken; ateş, ishal, huzursuzluk, uykusuzluk, kusma, kulak kaşıma alışkanlığı, kızarıklık, döküntü, soğuk algınlığı semptomları gibi sistemik semptomlar da görülebilmektedir (83,84).

2.2.1. Lokal Semptomlar

2.2.1.1. Diş Etlerinde İnflamasyon

Diş sürmesi sırasında görülen diş eti inflamasyonu, hem çocuk doktorları hem de çocuk diş hekimleri tarafından sıklıkla tespit edilen bir semptomdur (85). Bu dönemde görülen diş eti inflamasyonun, bebeklerde bakteriyel enfeksiyon görülme olasılığını arttırdığı da düşünülmektedir (86). Güncel çalışmalarda, diş sürmesinin klinik belirtileri ve buna bağlı diş eti inflamasyonunun immünolojik bir temelinin olduğu bildirilmiştir. Bu

dönemde, İnterlökinler (IL), Tümör nekroz faktörü (TNF), İnterferonlar (IFN'ler), Büyüme faktörleri (GF) ve Koloni uyarıcı faktör (CSF) dahil olmak üzere pro-inflamatuar ve immün düzenleyici sitokinlerin salınımının indüklendiği tespit edilmiştir (87). Aynı zamanda, sürmekte olan dişin etrafındaki dokularda biriken lenfosit ve mast gibi inflamatuar hücrelerin sayısında da artış gözlenmektedir. Bu duruma bağlı olarak histamin, lökotrien, prostaglandin, proteazlar, sitokinler ve büyüme faktörlerinin de lokal olarak artışının, diş etlerindeki inflamasyonun sebebi olabileceğini bildiren çalışmalar da mevcuttur (88).

Bebeklerde diş sürme döneminde görülen semptomlar hakkında çeşitli ülkelerde yapılan anket çalışmalarına göre; Ürdün'deki ebeveynlerin %93,6'sı, Arabistan'daki ebeveynlerin %71-84'ü, Türkiye'deki ebeveynlerin %76,7'si, Etiyopya'daki ebeveynlerin %72,9'u bu dönemde bebeklerin diş etlerinde inflamasyon bulgularının bulunduğunu bildirmişlerdir (78,89–91).

2.2.1.2. Salya Artışı

Diş sürme döneminde en sık bildirilen semptomlardan biri de salya artışıdır (91). Ebeveyn görüşlerinin değerlendirildiği bir anket çalışmasında, dişin sürme öncesi üç gün, diş sürmesinin olduğu gün ve diş sürmesinden sonraki üç gün incelenmiştir ve diş sürmesi sonrasındaki dönemde diş sürme öncesi döneme göre salya artışında bir azalma olduğu bildirilmiştir (92). Sağlık çalışanlarına yönelik yapılan çalışmalarda ise, bebeklerin fizyolojik ve anatomik gelişimleri göz önüne alınmış, tükürük bezlerinin gelişimine bağlı salya artışı görüldüğü savunulmuştur (16,93,94).

2.2.1.3. Isırma İsteğinde Artış

Diş sürmesi görülen bir bebek ağzına götürebildiği her şeyi ısırma eğilimindedir. Bir nesneyi ısırma veya kemirmekle diş etlerinde oluşan basınç, sürmekte olan dişe bağlı diş etinde gelişen karşı basıncın hafifletilmesine yardımcı olmaktadır (80). Ebeveynlere göre, diş sürme dönemindeki bebeklerde en sık görülen semptomlardan birisi ısırma isteğindeki artıştır (92,95). Ebeveynlere yönelik yapılan çalışmalarla uyumlu olarak,

sağlık çalışanları da bu dönemdeki bebeklerde ısırma isteğinde artışın görüldüğünü bildirmiştir (94).

2.2.2. Sistemik Semptomlar

2.2.2.1. Ateş

Vücut sıcaklığının, 37 Santigrat derece (°C) veya 98.6 Fahrenheit derece (°F) 'nin üzerinde olması ateş olarak tanımlanmaktadır. Diş sürmesi ile ilişkili olarak meydana geldiği şüpheli olan sistemik semptomlardan biri de ateştir (16,80,94,96). Bu dönemde bebeklerde görülen ateşin, bu sürece özgü olup olmadığını araştıran farklı çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda bebeklerin oral, aksiller, timpanik ve rektal farklı vücut sıcaklıkları, cıvalı, elektronik veya kızılötesi termometreler ile ölçülmüştür (97–99). Rektal, aksiller ve timpanik sıcaklıkların ölçüldüğü çalışmalarda, diş sürme süreci ile ateş arasında anlamlı bir ilişki bulunurken; vücut sıcaklığının ölçümünde yöntem belirtilmeyen bir çalışmada ise diş sürme süreci ve ateş arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (97,99–101).

Vücut sıcaklıklarının ölçümünde önem taşıyan bir diğer durum ise, ölçümün ebeveyn veya bir sağlık çalışanı tarafından yapılmış olmasıdır. Literatürde, ebeveynler tarafından elde edilen sıcaklık okumalarının, aynı cihazı kullanan bir hemşire tarafından elde edilen değerlerden klinik olarak anlamlı bir düzeyde (0,5°C veya daha fazla) farklı olduğu bildirilmiştir (102). Ateş ve diş çıkarma sürecinin incelendiği çalışmaların sonuçlarında, bebeklerin yaşının, vücut sıcaklığı ölçüm cihazlarının ve anatomik bölgelerinin farklılık göstermesine bağlı olarak değişiklik gösterdiği düşünülmektedir (102,103).

Bebeklerde bakteriyel etkenlerden bağımsız olarak gelişen vücut sıcaklığının artışında endojen pirojen olarak kabul edilen bir sitokin olan IL-1β sorumlu olduğu düşünülmektedir (104). IL-1β, pro-inflamatuar sitokinlerin artışında tetikleyici bir faktördür ve ateşin gelişmesinde rol oynayan mediatörlerin senteziyle de ilişkilendirilmektedir (105,106). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, sürmekte olan

dişlerin perikoronal foliküllerinde IL-1β'nın artış gösterdiği ve bu durumun vücut sıcaklığında artışa sebep olabileceği düşünülmektedir (106).

2.2.2.2. İshal

Bebeklerin süt dişlenme döneminde yeme alışkanlıklarının değişmesi, salya artışı, ısırma isteğinde artış ve huzursuzluğa bağlı olarak ishal gibi sindirim sistemi bozuklukları gelişebilmektedir (107). Özellikle salya artışının bebeklerde ishal için önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir (108). Fakat bazı sağlık çalışanlarına göre, bebeklerin ısırma isteğine bağlı olarak kontamine cisimlerle temasta olmasına ve vücut direncinin azalmasına bağlı olarak ishal geliştiği ve süt dişlenme dönemine özgü bir durum olmadığı da savunulmaktadır (16,94,109).

Son zamanlarda yapılan çalışmalara göre ise, bebeklerin süt dişlenme dönemindeki IL-1ß ve IL-8 seviyelerindeki değişikliklerin gastrointestinal bozukluklara sebep olduğu düşünülmektedir (106).

2.2.2.3. Huzursuzluk ve Uyku Problemleri

Diş sürme döneminde, dişin yüzeye yaklaşmasıyla diş etlerindeki ağrı artışı bebekler için huzursuzluğa ve uyku problemlerine sebep olabilir (95,110).

Bebeklerde diş sürmesine bağlı olarak gündüz ve gece boyu devam eden lokalize ağrının özellikle geceleri daha da arttığı ebeveynler tarafından bildirilmektedir (89,91). Macknin ve ark. (94) 'nın yaptığı çalışmada, bebeklerde uykusuzluk, huzursuzluk semptomu ve diş sürmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Ancak bu çalışmanın aksine, bebeklerin yaşamının ilk yıllarında genel uyku problemlerinin görüldüğü ve süt dişlenme dönemine özgü bir durum olmadığı da düşünülmektedir (16).

2.2.2.4. Ciltte döküntü ve kızarıklık

Bebeklerde diş sürme döneminde salya artışına bağlı olarak çene, ağız çevresi ve yüzde tahrişlerin görülme ihtimali bulunmaktadır (80). Ebeveynlere yönelik yapılan anketlerde, %5,7 ile %13,2 arasında değişen oranlarda ciltte döküntü ve kızarıklığın

görüldüğü bildirilmiştir (78,89,91,95). Ancak anket çalışmaların aksine, diş sürmesi ile ciltte döküntü ve kızarıklık arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (90,94,111,112). Bu durumun, diş sürme dönemindeki bebeklerde sıklıkla görülen, ciltte döküntü ve kızarıklığa sebep olabilen İnsan Herpes Virüsü-6 (HHV-6)'ya bağlı olarak da gelişebileceği göz önünde bulundurulmalıdır (113,114).

2.2.2.5. Yanak Ovma ve Kulak Çekme

Bebeklerin diş sürme dönemindeki diş eti ağrıları, özellikle süt molar dişler sürmeye başladığında kulaklara ve yanaklara doğru yayılabilir. Bu durum, bebeklerde yanak ovuşturma veya kulak çekmeye eğilim oluşturabilmektedir. Ancak bebeklerde görülen kulak çekme alışkanlığının kulak enfeksiyonlarına da bağlı olarak gelişebileceği göz önünde bulundurulmalıdır (80).

2.2.2.6. Soğuk Algınlığı Semptomları

Burun akıntısı, öksürük ve genel soğuk algınlığı semptomlarının bebeğin ellerini düzenli olarak ağzında tutmasından kaynaklandığına inanılmaktadır (83,101,115). Bebeklerdeki öksürüğün, diş sürme dönemindeki salya artışına bağlı olarak da geliştiği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda, öksürük ile diş sürmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir (94,116). Bu dönemde görülen öksürüğün, diş sürme semptomu olarak değerlendirilmesi, bronkopnömoni gibi sistemik hastalıkların teşhisinde ve tedavisinde gecikmelere sebep olabilmektedir (89,90).

Diş çıkarma dönemindeki bebeklerde, hem ebeveynler hem de sağlık çalışanları tarafından bildirilen lokal ve sistemik birçok semptom bulunmaktadır. Güncel çalışmalar, çoğu sistemik diş çıkarma semptomlarının (ateş, ciltte kızarıklıklar, huzursuzluk ve uyku bozuklukları, ishal) başka sistemik hastalıklara veya alışkanlıklara bağlı olarak geliştiğini bildirmektedir (17,80,94). Aynı zamanda, bebeklerde görülen semptomların, ebeveynler tarafından subjektif veriler olarak bildirilmesi sebebiyle değişiklik gösterebilmektedir ve kesin olarak diş sürmesi ile bir çok semptomun ilişkisi açıklanamamaktadır. Semptomlar, bebekten bebeğe farklılık gösterebilmektedir (17,80).

2.3. Diş Sürmesi Sırasında Görülen Semptomların Azaltılmasına Yönelik Tedavi Yöntemleri

Geçmişten günümüze, diş çıkarma semptomlarına yönelik birçok tedavi denenmiştir. Diş etlerindeki ağrının giderilmesi için kloroform, kafur, cıva gibi kimyasallarla masaj, sülük uygulaması, ağaç kökleri gibi katı nesnelerin ısırılması, papatya gibi yatıştırıcı bitkilerle masaj önerilmiştir (96). Bu önerilerin dışında diş etinin delinmesi ve dağlama gibi invaziv teknikler de denenmiştir. Ancak, bu teknikler zamanla uygulanabilirliğini kaybetmiş, güncel yaklaşımlar gelişmiştir. Bu yaklaşımlar arasında farmakolojik ve farmakolojik olmayan tedaviler bulunmaktadır (117). Bebeklerde diş sürme semptomları ve semptomlara yönelik tedaviler hakkında 2000-2018 yılları arasında yapılan çalışmalar Tablo 2.1' de gösterilmiştir.

2.3.1. Diş Sürmesi Sırasında Görülen Semptomları Azaltmaya Yönelik Farmakolojik Olmayan Yöntemler

2.3.1.1. Diş Kaşıyıcıları

Bebeklerde lokalize diş sürme ağrısının kısa süreli de olsa rahatlatılması için en sık kullanılan ve Amerikan Pediatrik Diş Hekimliği Akademisi (AAPD) tarafından da önerilen yöntemlerden biri diş kaşıyıcılarıdır (118,119). Diş etindeki semptomlarındaki azalmanın, diş kaşıyıcılarının çiğnenmesiyle oluşan basınç ve soğutularak kullanımı sayesinde olduğu düşünülmektedir (96). En sık kullanılan diş kaşıyıcıları arasında katı silikon bazlı diş çıkarma halkaları ve içerisi sıvı dolu diş kaşıyıcıları bulunmaktadır. Sıvı dolu diş kaşıyıcılarının hasar gördüğünde içeriğinin sızma riskinin bulunması ve sterilizasyon edilememesi nedeniyle, ebeveynler tarafından katı silikon bazlı diş çıkarma halkaları daha çok tercih edilmektedir. Bu nedenle, diş kaşıyıcıların yapıldığı materyallerin potansiyel zarar riskinin gözetilerek, ürünlerin ambalajlarının hem sağlık çalışanları hem de ebeveynler tarafından incelenmesi önerilmektedir. Aynı zamanda, ısırma isteği sebebiyle bebeklerde bu dönemde emzik kullanımında da artışın görüldüğü bildirilmiştir (80).

2.3.1.2. Dondurulmuş Gıdalar

Meyveler, sebzeler veya diğer yiyecekler dahil olmak üzere soğuk veya donmuş nesneleri ısırmak veya emmek lokal vazokonstriksiyona neden olur ve iltihabı azaltır. Dondurulmuş gıdaların oluşturduğu basınç, diş etlerinde masaj etkisi oluşturarak da ağrıyı azaltabilmektedir. En sık kullanılan gıdalar arasında, soğutulmuş salatalık ve havuç, dondurulmuş muz gibi çeşitli meyve ve sebzeler bulunmaktadır (80).

Ebeveynler tarafından doğal olması nedeniyle dondurulmuş gıdalar tercih edilirken, çürük yapma riski olan yüksek şeker içerikli gıdalara ve diş etinde tahrişin gelişmesini önlemek için sert gıdalara dikkat edilmesi önerilmektedir (120,121). Bebeklerde küçük yiyeceklere bağlı boğulmayı önlemek için ebeveyn gözetimi gereklidir (92).

2.3.1.3. Sarılma Terapisi

Bebeklerde diş çıkarma döneminde görülen huzursuzluk, ağlama, uyku problemleri sarılma terapisi ile kontrol altına alınabilmektedir. Bu dönemlerde davranış terapisi ve bilişsel yöntemler, bebeklerde kaygının azalmasına ve dikkatinin dağılmasına yardımcı olabilir. Bebeklerin dikkatinin dağılması için ebeveynleriyle oyun oynaması, şarkı söyleme gibi faaliyetlerde bulunması da dikkatin ağrıdan uzaklaşmasını sağlayabilir (116).

2.3.1.4. Masaj

Sürmekte olan dişin ağrılı mukozasına temiz bir parmak, gazlı bez ya da soğuk bir kaşık yardımıyla yapılacak olan hafif basınçlı masaj, lokalize ağrının azalmasına yardımcı olabilir (80).

2.3.2. Diş Sürmesi Sırasında Görülen Semptomları Azaltmaya Yönelik Farmakolojik Yöntemler

Bebekler için diş sürme döneminde semptomları azaltmak amacıyla farklı farmakolojik yöntemler bulunmaktadır. Çoğu ebeveyn diş çıkarma sırasında farmakolojik preparatları kullanmaktan kaçınıp, daha doğal yöntemleri tercih etmektedir. Farmakolojik

olmayan yöntemler bebeklerin semptomlarında azalma ve rahatlama sağlamadığında, topikal ve sistemik farmakolojik yöntemleri yönelim gerçekleşmektedir (80).

2.3.2.1. Sistemik Preparatlar

Parasetamol ve ibuprofenin konservatif kullanımı diş çıkarma kaynaklı rahatsızlığa yardımcı olabilmektedir (117). Ancak, diş sürme dönemindeki çocuklar için düşük parasetamol dozları etkisiz olup, aşırı doz ise şiddetli hepatoselüler nekroza ve renal tübüler nekroza yol açabilmektedir. Belirli tıbbi durumlar (örn. HIV pozitif ve yetersiz beslenme) ve enzim indükleyen ilaçlar (örn. Karbamazepin), bebeklerin önemli ölçüde daha düşük plazma parasetamol konsantrasyonlarında toksisite geliştirebileceği anlamına gelmektedir. Bu nedenle, parasetamol tavsiye edilirken veya reçete edilirken sistemik hastalıklar göz önünde bulundurulmalıdır. İbuprofenin süspansiyon formu ise bir yaşın üzerindeki çocuklarda kullanılabilir ancak, diş çıkarma semptomları için tavsiye edilmemektedir (80). Parasetamole kıyasla ibuprofen, çocuklarda daha sık yan etkilere neden olmasına rağmen ağrı ve ateşin tedavisinde daha etkili olabilmektedir (122,123).

2.3.2.2. Topikal Diş Jelleri

Topikal diş jelleri, bebeklerde diş sürmesine bağlı lokalize ağrının giderilmesinde masaj yoluyla uygulanabilmektedir. Piyasada farklı içerikte birçok diş jeli bulunmaktadır. Lokal anestezik içerikli, kolin salisilat içerikli ve hyalüronik asit içerikli diş jelleri, çocuk doktorları, diş hekimleri tarafından sıklıkla reçete edilmekte ya da ebeveynler tarafından doktor kontrolü bulunmadan temin edilmektedir (80).

Lidokain içerikli diş jelleri:

Lidokain hidroklorür, mukoza membrandan hızla emilen ve geçici olmasına rağmen ağrının anında azalmasını sağlayan bir lokal anesteziktir (80). Lidokain içerikli diş jelleri, çocuklarda aftöz ülser, ödem, diş sürmesi veya diş eti iltihabı gibi ağrılı ağız lezyonlarını tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır (124). Lidokain tek başına veya başka bir lokal anestezik ile kombinasyon halinde de kullanılabilmektedir (125,126). Çocuklarla yapılan farklı klinik çalışmalarda topikal olarak uygulanan lidokain, ağrıyı

azaltmada etkili bulunmuştur (111,127–129). Bu çalışmaların aksine, yapılan bir başka çalışmada farklı yaş gruplarındaki aftöz ülser bulunan çocuklardaki lidokainin etkinliği yeterli bulunmamıştır (130).

Kolin salisilat içerikli diş jelleri:

Salisilatlar minör analjezikler olarak kabul edilirler ve mukoza zarına kolayca nüfuz etmeleri ve hızlı ağrı kesici sağlamaları bakımından lidokain hidroklorüre benzemektedir. Lidokain bazlı preparatlara göre ana farmakolojik avantajları, analjezi sağlamanın yanı sıra anti-inflamatuar ve antipiretik olmaları ve ödemi azaltmalarıdır (80). Kolin salisilat, non-steroidal anti-inflamatuar bir ilaç olup, salisilik asitin asetillenmemiş bir türevidir. Asetil-salisilik asit, düşük pH değeri nedeniyle, oral mukozal irritasyon ve diş minesiyle temas etmesi durumunda erozyona sebep olabilmektedir. Bu nedenle, asetil-salisilik asitin kolin salisilat formu, nötr pH'a sahip olması sayesinde oral lezyonlar ve diş sürmesine bağlı görülen diş eti inflamasyonunun tedavisinde kullanılmaktadır (131). Ancak kolin salisilat içerikli diş jellerinin, salisilat içeriğine bağlı olarak çocuklarda Reye sendromuna sebep olduğunu bildiren vakalar mevcuttur. Kolin salisilat preparatlarının oral mukozaya sık sık uygulanmasının da kimyasal yanıklara neden olabileceği düşünülmektedir (132–134). Bu nedenle ebeveynler tarafından bu jellerin doktor tavsiyesi dışında bilinçsiz kullanılması tehlike arz etmektedir (134).

Hyaluronik asit içerikli diş jelleri:

Hyaluronik asit, deride, gözün aköz hümöründe ve eklem sıvısında bulunan doğal olarak oluşan viskoz bir polisakkarittir. Hyaluronik asitin sodyum hyaluronat formu, oral mukozada film tabaka oluşturabilen muko-adeziv bir ajandır (1,135). Fizyolojik pH ve iyonik kuvvete sahip olan hyaluronik asit, doku kayganlaştırıcı görevi görebilecek ve dokudaki nemi artırabilecek bir viskoelastik çözelti oluşturmaktadır. Dokudaki nemi artırması ve koruyucu bir film tabakası oluşturabilmesinin iyileşmeyi artırdığı düşünülmektedir (135). Güncel tedavi yaklaşımlarını değerlendiren çalışmalarda, diş etlerine masaj yoluyla uygulanan hyaluronik asit içerikli diş jellerinin, diş sürmesine bağlı görülen semptomları azalttığı bildirilmiştir (136). Hyaluronik asitin etkinliği, bebeklerin

oral mukozası üzerinde jelin kalabilme yeteneğine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (135).

Yapılan deneysel çalışmalarda, anti-inflamatuar, doku onarıcı ve ödem azaltma özellikleriyle, hyaluronik asitin oral patolojilerinin tedavisinde etkinliği kanıtlanmıştır (137). Bazı çalışmalar, hyaluronik asitin, diş eti iltihabı ve diş sürmesine bağlı gelişen diş eti travması gibi oral lezyonlarda klinik kullanımını tanımlamıştır (138,139).

Hyaluronik asit içerikli ürünler, hyaluronik asitin etkinliği, kullanım kolaylığı ve hastaların memnuniyeti nedeniyle hekimlerin, yetişkin hastaların ve ebeveynlerin ilgisini çekmiştir (135).

Tablo 2.1: Bebeklerde diş sürme semptomları ve semptomlara yönelik tedaviler hakkında 2000-2018 yılları arasında yapılan çalışmalar

Yazar	Örneklem Sayısı	Yaş	Çalışmanın yapıldığı ülke ve yılı	Bildirilen Semptomlar	Tedavi
Macnin ve ark. (94)	125	Bebeklerin 4.aydan itibaren 8 aylık takipleri yapılmıştır.	Amerika Birleşik Devletleri (2000)	İştah azalması, ısırma isteğinde artış, salya artışı ,kulak ovma, huzursuzluk, ciltte kızarıklık, parmak emme, ateş ve uyku problemleri	Yok
McIntyre ve McIntyre (80)	Yok	Yok	Birleşik Krallık (2002)	Diş eti inflamasyonu, sinirlilik, uyku problemler, ciltte kızarıklık, salya artışı, ishal, iştah kaybı, kulak çekme	Semptomlara yönelik homeopatik yöntemlere ek olarak topikal ve sistemik farmakolojik preparatlar kullanılmıştır.
Shapira ve ark. (106)	16	5-14 ay	İsrail (2003)	Ateş ve uyku bozuklukları, gastrointestinal rahatsızlıklar,iştah bozuklukları	Yok
Oziegbe ve ark. (140)	1006	4-36 ay	Nijerya (2009)	Ateş, ishal ve kusma	Yok
Owais ve ark. (91)	958	0-3 yaş	Ürdün (2010)	Isırma isteğinde artış, diş eti inflamasyonu, iştahsızlık, salya artışı, ateş, uyku bozuklukları,	Dondurulmuş gıdalar, topikal ve sistemik preparatlar
Ramos-Jorge ve ark. (101)	47	5-15 ay	Brezilya (2011)	Sinirlilik, salya artışı, burun akıntısı, iştahsızlık, ishal, ciltte döküntü, uyku bozukluğu	Yok
Noor Mohammed ve Basha (84)	1100	4-36 ay	Hindistan (2012)	Ateş, salya artışı, ishal	Yok
Memarpour ve ark. (92)	254	8-36 ay	İran (2015)	Salya artışı, uyku bozukluğu, sinirlilik	Diş kaşıyıcıları, sarılma terapisi, diş eti masajı
Elbur ve ark. (89)	493	6-36 ay	Suudi Arabistan (2015)	Isırma isteğinde artış, ateş, diş eti inflamasyonu, salya artışı, ishal	Soğutulmuş gıdalalar, sistemik preparatlar
Lam ve ark. (141)	1237	6-18 ay	Singapur (2016)	Ağrı, ateş	Yok
El-Gilany ve ark. (142)	457	Yok	Mısır (2017)	Isırma isteğinde artış, salya artışı, diş eti inflamasyonu, ateş, kilo kaybı	
Ip ve ark. (143)	200 eczacı	Yok	Amerika Birleşik Devletleri (2018)		Topikal diş jelleri (en çok benzokain içerikli diş jelleri)

2.4. Sitokinler

Sitokinler, çeşitli hücreler tarafından, hücrelerin lokal, sistemik özelliklerini ve davranışlarını etkilemek amacıyla üretilen düşük molekül ağırlığına sahip glikoproteinlerdir. Proliferasyon, immünite, inflamasyon, doku onarımı ve hematopoez gibi önemli biyolojik aktivitelerde rol oynamaktadır (12). Sitokinler, lenfositler tarafından üretildiğinde lenfokin; monositler tarafından üretildiğinde monokin, lökositler tarafından üretildiğinde ise interlökin olarak adlandırılır (144). İmmün sistem hücreleri tarafından üretilebilen sitokinler aynı zamanda, endotel, epitel hücreleri ve fibroblastlar tarafından da üretilmektedir (145,146). Sitokinlerin farklı hücreler tarafından üretilebilmesi, organizmada yapım ve aktivasyonu gibi önemli biyolojik aktivitelerde hücre düzenleyici görevinin bulunmasını sağlamıştır. Sitokinlerin sentezlendiği hücreyi etkilemesi otokrin etki; sentezlenip çevre hücreleri etkilemesi parakrin etki veya hormonal etki göstermek amacıyla diğer doku veya organları etkilemesi endokrin etki olarak kabul edilmektedir (144). Sitokinler farklı etkiler gösterebilmesi sebebiyle, komşu hücre fonksiyonlarını, farklılaşmalarını ve gelişimlerini düzenleyen sinyaller taşıyarak inflamasyonu ve iyileşmeyi yönlendirir ve düzenler (147). Sitokinler, ağırlıklı olarak gösterdikleri etkilere göre Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2: Sitokin grupları

Sitokin grupları	**Sitokin çeşitleri**
Kemotaktikler	IL-8, MIP-1, MCP-1
Pro-inflamatuarlar	IL-1α, IL-1β, IL-6, TNF-α
Anti-inflamatuarlar	IL-1Ra, IL-4, IL-10
Büyüme faktörleri	PDGF, EGF, FGF, IGF, VEGF
İmmün Regülatörler	IFN-ɣ, IL-2, 4, 5, 7

EGF: epidermal büyüme faktörü, FGF: fibroblast büyüme faktörü, G-CSF: granülosit koloni stimüle edici faktör, IFN: interferon, IGF: insulin benzeri büyüme faktörü, MCP: monosit kemotaktik protein, MIP: makrofaj inflamatuar protein, PDGF: trombosit kaynaklı büyüme faktörü, VEGF: vasküler endotelyal büyüme faktör (148)

Bebeklerde diş etinde gelişen lokal inflamasyona ve dokulardan sitokinlerin salınmasına farklı faktörler sebep olabilmektedir. Shapira ve ark. (87) diş çıkarmaya bağlı gelişen diş eti travmasının inflamatuar sitokinlerin salınımına ve eşlik eden sistemik belirtilere neden olabileceğini öne sürmüştür. Sandy ve ark. (149) diş sürmesi için gerekli olan dental folikül ve lokal kemik rezorpsiyonuna bağlı olarak sitokin salınımının gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda, ateş, ishal, uyku bozuklukları, iştah kaybı gibi diş sürmesinin sistemik semptomlarında sitokin seviyelerinde farklılıkların geliştiği gözlenmiştir (106).

2.4.1. IL-1ß

IL-1β, akut ve kronik inflamasyonda rol oynayan, IL-1 ailesinin üyesi olan bir pro-inflamatuar sitokindir. IL-1 ailesindeki sitokinler, hasar gören hücrelerden salınan moleküllere karşı gelişen doku cevabında pro-inflamatuar reaksiyonları yönetir (150,151). Bu nedenle IL-1 ailesi doğal immünitenin esas mediatörü olarak kabul edilmektedir (152). IL-1β esas olarak makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından salgılanır. Aynı zamanda gingival fibroblastlar, periodontal ligament hücreleri ve osteoblastlar da IL-1β salgılayabilir (153). IL-1β, hücre proliferasyonu, doku yıkımı, kemik rezorpsiyonu, düz kasların kasılması, kan basıncı ve santral sinir sisteminin hücre fonksiyonları gibi farklı doğal bağışıklık süreçlerinde rol oynamaktadır (154,155).

IL-1β, inflamasyon ile ilişkili gen ekspresyonunun stimülasyonunda görev almaktadır. İnflamatuar bölgede, lokal kan akışında artış, lökosit artışı ve nötrofil infiltrasyonundan sorumludur (156). Adezyon moleküllerinin üretimini ve kemotaktik bir sitokin olan IL-8 seviyelerini artırarak inflamatuar hücre göçünü artırır (157). Aynı zamanda makrofajlardan IL-6 ve TNF-α salımını artırarak kemik yıkımında rol oynar (158,159). IL-1β, IL-1 ailesinin diğer üyesi olan IL-1α'ya kıyasla kemik rezorpsiyonunda daha etkilidir (12,160). IL-1β, osteoblastlardan reseptör aktivatör nükleer faktör kappa-B ligand (RANKL) üretimini stimüle ederek osteoklastogenezi arttırmaktadır (161,162).

IL-1β endojen pirojen olarak, T hücrelerinin salınımında artışa ve hipotalamusun vasküler endotelyumundan prostoglandin E2 (PGE2) sentezini artırarak vücut sıcaklığında yükselmelere sebep olabilmektedir (163). Ayrıca, lokal inflamasyon

bölgesinde mast hücrelerinden vazodilatasyon ve damarsal geçirgenliği artıran bir mediyatör olan histamin salımını uyarır (164). Bu nedenle, inflamasyonun ilerlemesi ve bulgularının azaltılması için IL-1β inhibisyonu önemlidir (165).

Yenidoğan ratlarda yapılan, diş eti mukozasının günlük olarak incelendiği bir çalışmada, diş çıkarma sürecinin IL-1β salınımıyla başlayan ve ilerleyen bir inflamatuar süreç olduğu bildirilmiştir (166). Bebeklerde yükselen IL-1β seviyeleri ile, ateş, gastrointestinal rahatsızlıklar, uyku bozuklukları ve iştah rahatsızlıkları arasında da korelasyonlar bulunmuştur (106).

Periodontal hastalıklar ve IL-1β arasında da anlamlı bir ilişkinin olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur. Diş eti iltihabı durumunda diş eti oluğu sıvısında, üçüncü molar dişlere bağlı olarak gelişen perikoronit tablolarında, periodontitiste kemik rezorpsiyonuna neden olabilecek seviyelerde IL-1β artışının olduğu gözlenmiştir (167–172).

2.4.2. IL-6

IL-6, monositler, myeloid hücreler, T ve B lenfositler tarafında üretilen pro-inflamatuar bir sitokindir. İmmün sistem hücreleri dışında, endotel hücreleri, keratinositler ve fibroblastlar tarafından da sentezlenmektedir (160,173).

Il-6, birçok inflamatuar hastalıkta artış göstermekle birlikte, doku hasarı, konak savunması ve inflamasyon ile ilgili olan hümoral ve hücresel immünitede etkili olan çok fonksiyonlu bir sitokindir (174).

IL-6, mukozal immün yanıtta önemli bir rol oynamaktadır. Örneğin, inflamasyon görülen bir diş eti dokusundaki IL-6 seviyesi, sağlıklı diş etindeki IL-6 seviyesine göre daha yüksektir (175). Bununla birlikte inflame diş eti dokusundaki immünglobulin G (IgG) seviyesindeki artıştan da IL-6'nın sorumlu olduğu düşünülmektedir. Plazma hücrelerinin farklılaşıp immünglobulin salgılayabilmesi için IL-6 gerekli bir sitokindir (176).

IL-6, TNF-α ve IL-1β gibi proinflamatuar sitokinlerle benzer şekilde inflamatuar sürecin belirteci bir sitokindir (164). IL-6'nın IL-1 ve TNF-α sitokinleri tarafından

salınımı artırılırken, kortizol varlığında salınımı baskılanır (177,178). IL-6'nın bir özelliği de TNF-α üretimini engelleyerek inflamatuar süreci sınırlandırmak için negatif geri bildirim sağlamaktır. Osteoklast gelişimini stimüle edip, bir diğer proinflamatuar sitokin olan IL-1β ile sinerjistik etki göstererek kemik rezorpsiyonunu artırmak IL-6'nın bir diğer biyolojik etkisidir (179). Yakovlev ve ark., ise periodontitisin erken aşamalarında IL-6'nın yüksek seviyelerde bulunduğunu bildirmiştir (171).

IL-6, hipotalamusu etkileyerek vücut sıcaklığında artışına sebep olur ve karaciğer tarafından akut faz proteinlerinin üretilmesini sağlar (177). Üzerinde en çok çalışma yapılan sitokinlerden biri olan IL-6, enfeksiyon varlığında serumda erken ortaya çıkan bir belirteçtir ancak yarı ömrü kısadır. Enfeksiyon tedavisini takiben, 24 saat içerisinde konsantrasyonu saptanamayacak düzeyde azalmaktadır (180).

2.4.3. IL-8

IL-8 kemotaktik bir sitokindir ve inflamasyon bölgelerinde immün sistem hücrelerinin göçü ve aktivasyonundan sorumludur (181,182). IL-8, nötrofillerden, monositlerden, endotel hücrelerinden, vasküler düz kas hücrelerinden üretilmektedir. İmmün sistem hücreleri dışında, gingival fibroblastlardan, keratinositlerden ve diş eti sulkusundaki fagositlerden de üretilebilmektedir. İnflamatuar bir yanıt sonucu oluşan IL-1β ve TNF-α gibi sitokinler de IL-8 seviyelerini artırmaktadır (183–185).

IL-8'in esas görevi; enfeksiyon ve inflamasyon durumunda doku ve dolaşımdaki nötrofillerin bulunduğu yerleri aktive ederek, doku hasarı bulunan bölgeye göçü sağlamaktır. Bu özelliğinin yanı sıra nötrofillerin degranülasyonuna da katılmaktadır. IL-8, endotel hücrelerinin proliferasyonunu indükleyerek yeni damarların oluşumunu uyarır ve anjiyogenezde de rol oynar. Periodontal dokulardaki lokal uyaranlar, nötrofiller üzerinde kemotaktik etki göstermesi için IL-8'i uyarır (186). IL-1β, TNF-α, PGE2 ve matriks metalloproteinazlar (MMP) gibi diğer inflamatuar mediatörlerle birlikte hücre dışı matriks yıkımına ve alveolar kemikte rezorpsiyona neden olurlar (187–190).

Diş sürme döneminde görülen sistemik semptomlar ve sitokinler arasındaki ilişkiyi değerlendiren bir çalışmada, ishal gibi gastroinstestinal rahatsızlıklar ve IL-8 seviyelerindeki artış arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (106).

2.4.4. IL-10

IL-10, proliferatif ve inflamatuar yanıtı baskılayan anti-inflamatuar bir sitokindir. Eozinofiller, makrofajlar, mast hücreleri, dentritik hücreler, B hücreleri ve çoğu T hücre alt birimleri tarafından üretilmektedir (191). IL-10 sitokini, IL-1, IL-6 ve TNF-α gibi pro-inflamatuar sitokin ve kemokinlerin ve ayrıca nitrik oksit sentaz, jelatinaz ve kollajenaz gibi enzimlerin sentezini azaltır (192,193). IL-10'un nötralizasyonu ile IL-1 ve TNF-α sentezi de artmaktadır (192,193). Bu durum IL-10'un homeostatik ve inflamatuar reaksiyonlarda regülatif özelliğini ortaya çıkarır (194,195). Aynı zamanda, hem kemik rezorpsiyonunda inhibisyon yaparak hem kemik formasyonunu düzenleyerek kemik hacminin korunmasında da rol oynamaktadır (191).

IL-10'un başlıca fonksiyonu konağın zararlı immün yanıtını sınırlandırmaktır. IL-10 geni bastırılmış farelerde yapılan deneylerde, farelerde kronik enterokolit gelişmiş ve lezyonlarda mononükleer hücre infiltrasyonu ile birlikte, IL-1, IL-6, TNF-α, nitrik oksit seviyelerinin arttığı gözlenmiştir. Aynı zamanda IL-10'un enfeksiyona duyarlılığı artırdığını tespit eden çalışmalar da mevcuttur (196). Rekürrent aftöz stomatit görülen hastaların mukozalarında kontrol gruplarına göre daha düşük IL-10 ekspresyonunun olduğu saptanmıştır (197). Bazı çalışmalarda IL-10'un düşük seviyelerde salınımıyla gingival inflamasyonunu şiddetlendiği ve diş eti büyümesinin geliştiği bildirilmiştir (172).

IL-10, Sistemik lupus eritematozus, Sjögren sendromu ve psöriazis gibi otoimmün hastalıklarda da önemli bir rol oynamaktadır (198). Bağ dokusunda yıkımla karakterize olan kronik hastalıkların IL-10'un anti-inflamatuar etkisiyle yavaşlatılabileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (199).

2.4.5. TNF-α

Kaşektin olarak bilinen TNF-α, inflamasyonun başlıca pro-inflamatuar sitokinlerinden biridir ve enfeksiyon varlığında lokal inflamatuar yanıtın indükleyicisidir (163,200).

Monosit ve makrofajlar, hem lokal olarak hem de dolaşımda TNF-α'nın başlıca kaynağıdır. Bununla birlikte, glial hücrelerden ve kardiak myositlerden de lokal olarak TNF-α sentezlenmektedir (201). Fibroblastların ve endotel hücrelerinin TNF-α aracılığıyla salınımındaki artış, yara iyileşmesinde önemli bir faktördür (202).

TNF-α normal konsantrasyonlarda, doku yenilenmesi ve onarımı, sitotoksik reaksiyonlar, anti-tümoral bağışıklık ve inflamasyonda görev almaktadır. TNF-α'nın serumda yüksek seviyelerde bulunması, doku hasarı, katabolik hormon salınımı ve ateş gibi durumlara sebep olmaktadır. TNF-α, lokal ve sistemik inflamatuar cevapların etkinliği, süresi ve gücünü belirleyebilen bir pro-inflamatuar sitokindir. Bununla birlikte TNF-α, anti-inflamatuar bir sitokin olan IL-10 üretimini artırarak kendi sentezini sınırlayabilmektedir (201).

Bakteriyel inflamasyon varlığında ve immün sistemin aktivasyonu ile TNF-α üretilmektedir (160,203,204). İlaveten TNF-α, T yardımcı hücrelerinin ve osteoblastların proliferasyonunu artırabilmektedir (205,206). TNF-α, endotel hücrelerde oksidatif stres, kompleman aktivasyonu, vazokonstriktör üretimi, mikrotrombozis, enfarktüs ve tromboksan seviyelerinin artması gibi yapısal ve fonksiyonel değişikliklere sebep olmaktadır. Kemokinler, adezyon molekülleri ve PGE2 üretimi gibi bir çok reaksiyonda TNF-α, IL-1 ile beraber etkinlik göstermektedir (203).

TNF-α, IL-1β ile birlikte bir diğer pro-inflamatuar sitokin olan IL-6'nın ana indükleyicisidir (207). İnflamasyonda üretilen en yüksek osteoklastojenik potansiyele sahip bir sitokin olan TNF-α, RANKL aktivasyonu ile osteoklastogenezi yönlendirmektedir (208). Aynı zamanda, periodontitis ve ortodontik diş hareketleri gibi kemik yıkımının gerçekleştiği durumlarda da TNF-α ön plana çıkmaktadır (167,171,209,210).

Süt dişlerinin gingival oluğundan yapılan TNF-α ölçümlerinde, sağlıklı süt dişlerinin gingival oluğundaki TNF-α seviyeleri , ankiloze süt dişleri ve apeksinde daimi diş bulunmayan süt dişlerine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu duruma bağlı olarak, TNF-α seviyelerinin düşük olması ile osteoklastik aktivitenin olmayışı arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (211).

Shapira ve ark., sürmekte olan dişlerin diş eti oluğu sıvısında TNF-α'nın diğer sitokinlere göre daha fazla yükseldiğini ve IL-1β ile beraber ateş, uyku bozuklukları gibi sistemik semptomlara sebep olabileceğini bildirmişlerdir (106).

2.5. Sitokin Seviyesinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Sitokin üretiminin ve salımının deneysel olarak in-vivo incelenmesinde, sitokinlerin birçoğunun geçici ve lokal etkileri sebebiyle birtakım zorluklar mevcuttur. Bu nedenle, araştırılan patoloji çok şiddetli veya sistemik olmadıkça, plazmadan sitokin ölçümleri sınırlı uygulamalar için mümkündür (212,213).

Organlar veya dokuya özgü eklemler ve tendonlarda gelişebilecek inflamatuar reaksiyonlar, plazmadan sitokin ölçümlerini büyük ölçüde engelleyecektir. Bu nedenle, farklı sitokin seviyelerinin belirlenmesinde farklı yöntemler geliştirilmiştir. Bakteriyel, viral ve antijenlere karşı immün yanıtı uyarmak için oluşan tepkinin in vitro olarak belirlenmesi, test edilecek olan ilaç etkeninin veya materyalin biyolojik özellikleri hakkında bilgi verir (214).

Antijene özgü T hücresi immün cevabını doğru bir şekilde tespit edilebilen ve düzeyini belirleyen analizler, immün uyarılma ile oluşacak fizyolojik sürecin anlaşılması ve canlı doku ile uyumlu materyallerin üretilmesi için gereklidir (215).

Aktif antijene spesifik T hücrelerinin incelenmesi ve ölçülmesi için,

1.Bioassay,

2.Immunoassay (ELISA, RIA),

3.Solid faz enzim bağlantılı immunospot testi (ELISPOT),

4. Akış sitometrisi,

5.İmmünositokimya (hücrelerde ve hücre zarında sitokin lokalizasyonu),

6.İmmünohistokimya (doku kesitlerinde sitokin lokalizasyonu),

7. In-situ hibridizasyon (kesit ve hücrelerde mRNA ifadesi)

8.Toksikogenomik

9.Proteomik analizleri bulunmaktadır (216).

2.5.1. ELISA Yöntemi

Enzime bağlı immünosorban testi (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA) yönteminde, her sitokine özgü üretilen antikorlar kullanılmaktadır. Biyolojik sıvılardaki mevcut molekülleri ve bu moleküllerin konsantrasyonlarının belirlenmesi için enzim ile işaretlenmiş bir konjugat ve substratı kullanılmaktadır. Meydana gelen renk değişimiyle, antijen-antikor reaksiyonlarının gösterildiği kantitatif analitik bir yöntemdir (217).

ELISA, karmaşık yapıda olmayan ya da pahalı ekipmanlara ihtiyaç duyulmayan, hassas ve spesifik biyokimyasal değerlendirilmeler için tercih edilen bir testtir. ELISA, birkaç işlem basamağından oluşmaktadır. Kullanım talimatları, ELISA kitlerinin içerisindeki prospektüslerde bulunmaktadır. Birçok ticari ELISA kiti, yüksek standartlardadır ve otomatik olarak çalışabilir. Bu sayede hızlı ve doğru analizler yapılabilmektedir (218,219).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın etik kurul onayı Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından alındı (2020/430 sayılı karar). Çalışma Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 21.DUS.002 nolu proje olarak desteklendi. Çalışmanın deney aşaması Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında yürütüldü.

Çalışmada kullanılan diş jellerinin özellikleri, ticari preparat isimleri, içerikleri, üretici firmaları ve LOT numaraları Tablo 3.1'de gösterildi.

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan topikal diş jelleri

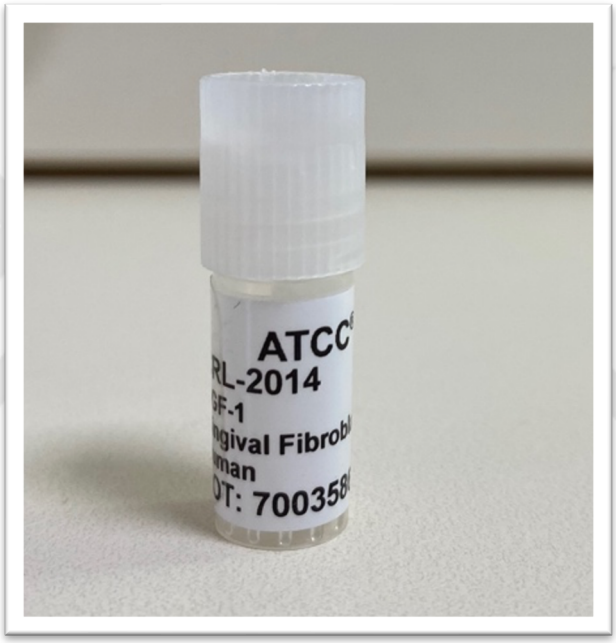
Özellik	**Ticari Preparat ismi**	**İçerik**	**Üretici firma ve LOT Numarası**
Lidokain içerikli diş jeli (LH1)	Calgel®	Ana içerik: Lidokain hidroklorür, setilpiridinyum klorür. Yan içerik: Sorbitol, ksilitol, alkol, sodyum sakkarin, mentol, tatlandırıcı, karamel.	GlaxoSmithKline (Brenthford, Birleşik Krallık) 21G018
Lidokain içerikli diş jeli (LH2)	Dentinox®	Ana içerik: Lidokain hidroklorür, hidroksipolietoksi dodekan, kamomil tentürü. Yan içerik: Ksilitol, sorbitol, propilen glikol, karbomer 934 P, %10'luk sodyum hidroksit solüsyonu, polisorbat 20, sodyum sakarin, mentol, distile su.	Abdi İbrahim (İstanbul, Türkiye) 19L017
Kolin Salisilat içerikli diş jeli (KS)	Dencol®	Ana içerik: Kolin salisilat Yan içerik: Klorheksidin glukonat, gliserin, sorbitol, povidon K90, PEG 40 hidrojenize hint yağı, sitrik asit monohidrat ve deiyonize su.	Berko ilaç (İstanbul, Türkiye) 2001209

Tablo 3.1 (devamı)

Hyaluronik Asit içerikli diş jeli (HA1)	Aftamed®	Ana içerik: Hyaluronik asit. Yan İçerik: Su, PEG 400, Xylitol, Polivinil Alkol, Karboksimetil Selüloz, PEG 40 Hidrojene Hint Yağı, PVP, PVM/MA Kopolimer, Eikosen kopolimeri, Gliseril Laurat, Polikarbofil Sodyum Sakkarinat, Monosodyum fosfat, Aroma, Kolin Alfaskerat, Trisodium fosfat dodecahidrat, Sodyum Laktat, Disodyum EDTA, Laktik Asit, Sodyum Hidroksit	Bioplax Pharma (Wallington, Birleşik Krallık) 1902253019
Hyaluronik Asit içerikli diş jeli (HA2)	Aftadur®	Ana içerik:Hyaluronik asit. Yan içerik: Su, polivinolprolidon (PVP), maltodekstrin, propilen glikol, PEG-40 hidrojenlenmiş Hint yağı, ksantam özütü, potasyum sorbat, sodyum benzoat, sodyum hiluronat, aroma, benzalkonyum klorür, disodyum EDTA, sodyum sakkarin, dipotasyum glycyrrhizate, aloe vera.	Avicenna Farma (İstanbul, Türkiye) 0AAL2TU00007
Hyaluronik Asit içerikli diş jeli (HA3)	Gengigel®	Ana içerik: Hyaluronik asit. Yan İçerik: Su, PEG 400, Xylitol, Polivinil Alkol, Karboksimetil Selüloz, PEG 40 Hidrojene Hint Yağı, PVP, PVM/MA Kopolimer, Eikosen kopolimeri, Gliseril Laurat, Polikarbofil Sodyum Sakkarinat, Monosodyum fosfat, Aroma, Kolin Alfaskerat, Trisodium fosfat dodecahidrat, Sodyum Laktat, Disodyum EDTA, (Laktik Asit, Sodyum Hidroksit içerebilir.)	Dentocare (London, United Kingdom)

3.1. Hücre Kültürünün Hazırlanması

Çalışmada, Amerikan tipi kültür koleksiyonu (ATCC, Virginia, USA) insan primer gingival fibroblast (HGF-1) kullanıldı (Şekil 3.1). Hücreler, kuru buzda muhafaza edilmiş soğuk zincir ile teslim alınmış olup, deneyin gerçekleşeceği zamana kadar -158 °C'de saklandı.



Şekil 3.1: İnsan primer gingival fibroblast hücreleri (HGF-1)

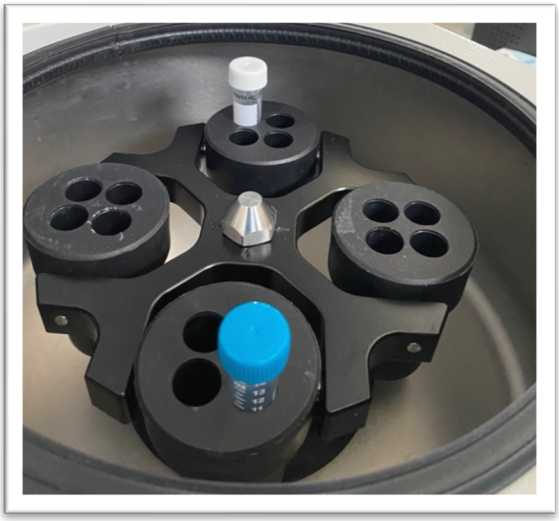
HGF-1 hücreleri için çalışmada kullanılmak üzere özel besi yerleri hazırlandı (Şekil 3.2). Üretici firmanın önerileri doğrultusunda 500 mililitre (ml) olacak şekilde hazırlanan besi yeri içerisinde;

1. 440 ml (%88) Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Capricorn, Ebsdorfergrund, Almanya)
2. 50 ml (%10) Fetal Bovine Serum (FBS, Capricorn, Ebsdorfergrund, Almanya)
3. 5 ml (%1) Penisilin-Streptomisin antibiyotik solüsyonu (Capricorn, Ebsdorfergrund, Almanya)
4. 5 ml (%1) Sodyum Pirüvat (BI biological industries, Beit-Haemek, İsrail) bulunmaktadır.

Şekil 3.2: HGF-1 için hazırlanan özel besi yeri

Çalışma zamanına kadar -158°C'de dondurulmuş olan hücreler, 37°C'deki ısıtmalı su banyosunda (GFL, Lauda, Almanya) çözdürüldü ve falkon tüplerine laminar akım kabini içerisinde alındı.

Falkon tüpü santrifüj cihazında (Nüve NF 400, Ankara, Türkiye), beş dakika boyunca dakikadaki devir sayısı (rpm) 1500 olacak şekilde santrifüj edildi (Şekil 3.3).

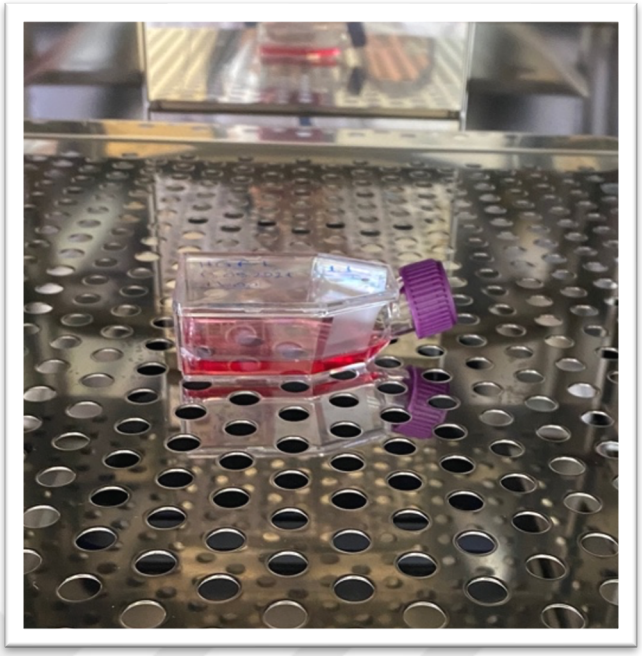


Şekil 3.3: Santrifüj işlemi

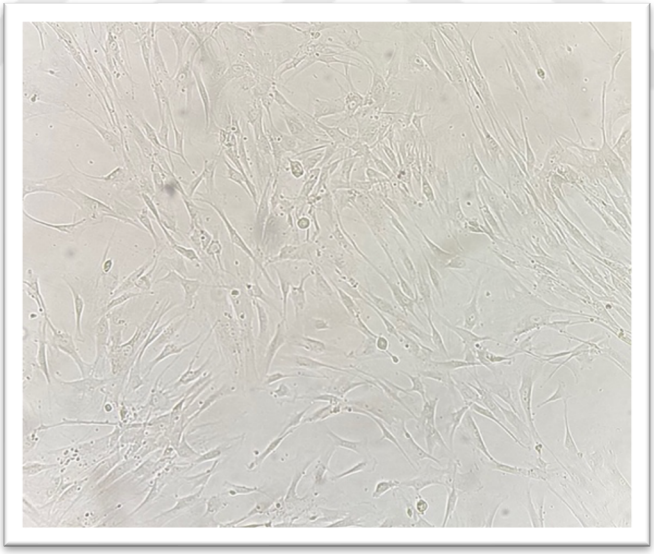
Santrifüj işlemi sonrası, falkon tüp içerisindeki dimetil sülfoksit (DMSO) ve besi yeri karışımı bulunan sıvı kısım (süpernatant) alındı ve ikinci bir besi yeri solüsyonu eklenerek ikinci bir santrifüj işlemine tabii tutuldu. İkinci santrifüj işlemi sonrasında, yine üstte kalan sıvı kısım uzaklaştırılarak besi yeri solüsyonu eklendi. Santrifüj işlemleri nedeniyle falkon tüpün tabanında toplanan hücrelerin sıvı içerisinde homojen bir dağılım göstermesi için pipetaj uygulandı ve hücreler 25 santimetrekare (cm^2)'lik flaska pasajlandı. Flasktaki hücrelerin görüntüsü, ters mikroskop altından kontrol edildi (Şekil 3.4).

Şekil 3.4: Ters mikroskopta incelenen 25 cm^2'lik flask

Kontrol edilen 25 cm^2'lik flasktaki hücreler 37°C, %5 CO_2 değerlerine sahip inkübatöre (Thermo scientific, Massachusetts, A.B.D) alındı ve hücrelerin flask tabanına tutunup çoğalması beklendi.(Şekil 3.5) Hücrelerin üremesi için inkübatörün sahip olması gereken ortam şartları düzenli olarak takip edildi. Flask tabanında tek tabaka halinde tutunan hücrelerin, bir hafta sonra ikinci bir pasajlama işlemi için yeterli alan kapladığı tespit edildi (Şekil 3.6).



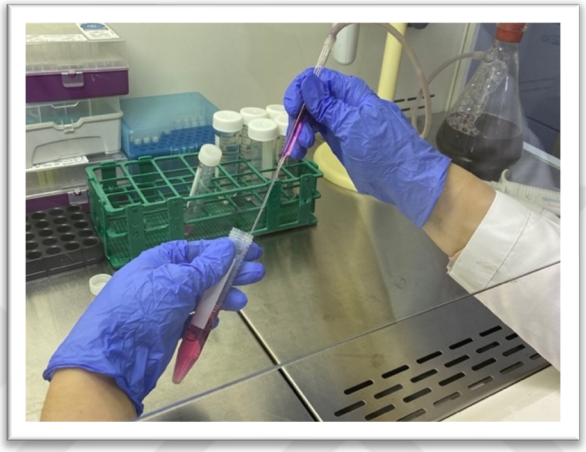
Şekil 3.5: İnkübatöre alınan flask



Şekil 3.6: Flask tabanına tutunan HGF-1 hücreleri

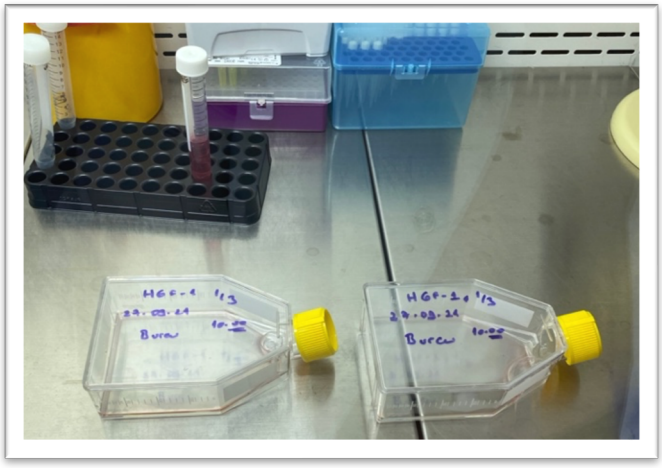
Flask içerisindeki besi yeri, flask tabanına tutunan hücrelere zarar verilmeden ortamdan uzaklaştırıldı. Tabana tutunmuş olan hücreleri tabandan kaldırma için %0.05'lik Tripsin-Etildiamin Tetraasetik Asit (EDTA, BI biological industries, Beit-Haemek, İsrail) eklendi. Hücrelerin tabandan ayrılması için, bulundukları flask %5 CO_2 içeren 37°C inkübatörde üç dakika bekletildi. Hücrelerin tabandan ayrıldıkları, ters mikroskop altında

kontrol edildi. Hücrelerin tripsin-EDTA solüsyonundan uzaklaştırılması için 10 ml besi yeri solüsyonu ile seyreltildi ve 1500 rpm devirde santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında falkon tüp tabanında toplanan hücrelere zarar verilmeden falkon tüpteki sıvı kısım uzaklaştırıldı (Şekil 3.7).



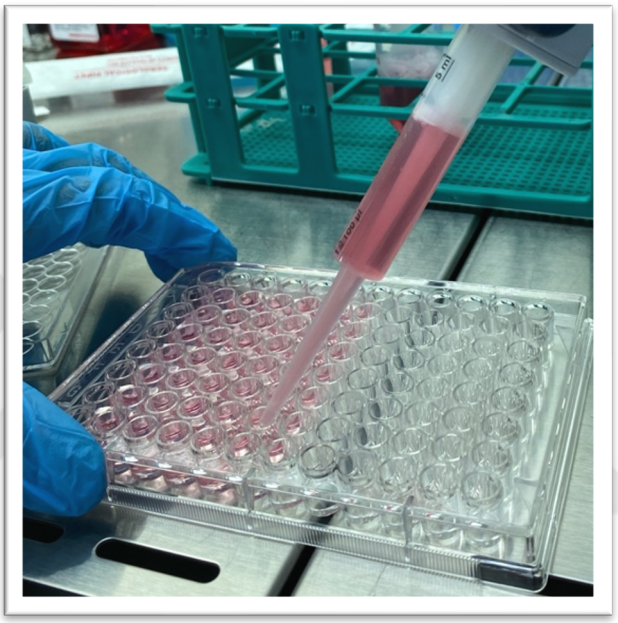
Şekil 3.7: Falkon tüpteki sıvı kısmın uzaklaştırılması

Hücrelerin üzerine tekrar besi yeri eklendi ve pasajlama için süspanse hale getirildi. Pasajlama işlemi için iki adet 75 cm^2'lik flask kullanıldı (Şekil 3.8).



Şekil 3.8: Pasajlama işlemi için kullanılan 75 cm^2'lik flasklar

Yeterli hücre sayısına ulaşılana kadar pasajlama işlemine devam edildi ve 6. pasajlama işlemi sonrasında ideal hücre sayısına ulaşıldı. Yeterli hücre sayısına ulaşıldıktan sonra poli-D-lisin kaplı 96 kuyucuklu mikroplakaların her bir kuyucuğuna 10 mikrolitre (µl) hücre ekildi.(Şekil 3.9) Hücrelerin mikroplaka tabanına tutunması için, mikroplaka 24 saat inkübatörde saklandı.

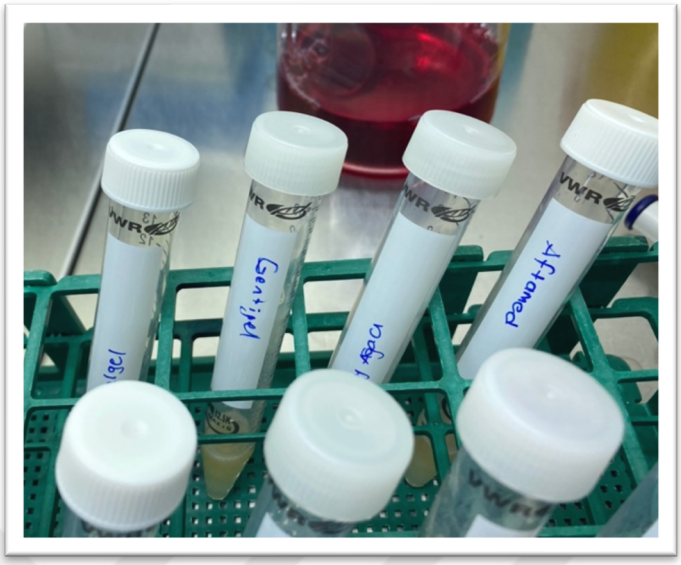


Şekil 3.9: Mikroplakalara hücre ekimi

3.2. Çalışmada Kullanılacak Olan Diş Jellerinin Hazırlanması, Uygulanması ve MTT Testi

3.2.1. Çalışmada Kullanılacak Olan Diş Jelleri Preparatlarının Hazırlanması

Diş jellerinin kullanım miktarlarını standardize etmek için her diş jeli 1 gram (gr) olacak şekilde darası alınmış falkon tüpleri içerisinde hassas terazide tartıldı. Suda çözünen preparatların üzerine 1 ml besi yeri solüsyonu eklenerek ana stok hazırlandı (Şekil 3.10). Hazırlanan falkon tüpler içerisindeki diş jellerinin homojen dağılımını sağlamak için vorteks cihazı kullanıldı.



Şekil 3.10: Diş jelleri için hazırlanan ana stoklar

3.2.2. Diş Jeli Preparatlarının Uygulanması

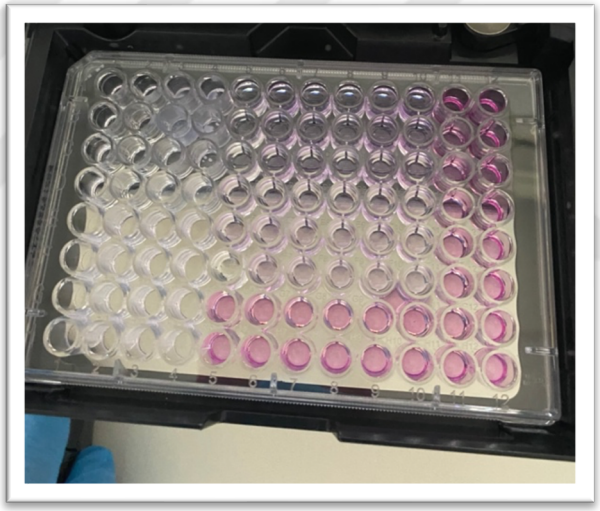
Mikroplakaların tabanına tutunması için inkübatörde 24 saat boyunca bekletilen hücreler ters mikroskop ile kontrol edildi. 96 kuyucuklu mikroplakalardaki kuyucuklara ana stoktan farklı oranlarda seyreltilerek hazırlanan diş jelleri uygulandı. Ana stoktan seyreltilerek 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/64, 1/256, 1/512, 1/1024 oranlarında ara stoklar hazırlandı. Hazırlanan ara stoklar, 96 kuyucuklu mikroplakalar üzerine uygulandı. Farklı oranlarda seyreltilmiş diş jelleri uygulanan mikroplakalar, inkübatöre alınarak MTT testinde belirlenen 24 saat bekletildi. Diş jellerinin sitotoksik oranlarının belirlenmesi için 24 saat sonra, 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolyum bromür (MTT) testi uygulandı.

3.2.3. MTT Testi

İnkübasyona bırakılan ve 24 saat sonra 96 kuyucuklu mikroplaka kuyucuklarındaki hücrelere MTT testi uygulanması için MTT stok solüsyonu hazırlandı. MTT stok solüsyonunda, 1 ml Phosphate Buffered Saline (PBS, Sigma Aldrich, Darmstad, Almanya) içerisinde çözdürülmüş 5 miligram(mg) MTT boyası (Sigma Aldrich, Darmstad, Almanya) bulunmaktadır. MTT stok solüsyonundan, her bir kuyucuğa

20 µl olacak şekilde MTT solüsyonu eklendi. MTT solüsyonu eklenen 96 kuyucuklu mikroplaka dört saat inkübatörde bekletildi ve dördüncü saatin sonunda mikroplaka inkübatörden çıkarıldı. İşlemi takiben, MTT solüsyonu kuyucuklardan uzaklaştırıldı.

MTT solüsyonunun oluşturduğu formazan kristallerini çözmek için her kuyucuğa 300 µl DMSO (Sigma Aldrich, Darmsad, Almanya) solüsyonu eklendi. Mikroplaklardaki formazan kristallerinin çözünmesini sağlamak için, 96 kuyucuklu mikroplaka oda ısısında karanlık bir ortamda bulunan çalkalayıcı üzerinde 10 dakika boyunca bekletildi. Bekleme işlemini takiben, mikroplaka spektofotometre (Biotek Instuments, Vermınt, A.B.D) ile 570 nanometrede(nm) okundu (Şekil 3.11).



Şekil 3.11: Spektrofotometreye yerleştirilen 96 kuyucuklu mikroplaka

Diş jellerinin uygulandığı kuyucukların optik dansite değerleri, herhangi bir diş jeli eklenmemiş olan boş kontrol kuyucuklarının optik dansite değerleri ile kıyaslandı ve diş jelleri uygulanmış hücrelerin canlılık değerleri elde edildi. Her diş jelinin bulunduğu kuyucuktaki canlılık değerleri hesaplandı.

Diş jellerinin hazırlanmış olan her konsantrasyonu için 6 adet kuyucuğa uygulama yapıldı ve canlılık değerlerinin ortalaması alındı. Hücrelerin %50'sinin sağ kalımını, %50'sinin ölmesi sağlayan konsantrasyonlar, diş jellerinin Letal doz 50 (LD50) değeri olarak kabul edildi.

3.3. ELISA Yöntemi ile Proinflamatuar/Antiinflamatuar Sitokinlerin Protein Düzeylerinin Tayini

Topikal diş jellerinin HGF-1 hücrelerine uygulanması ve sonrasında proinflamatuar/antiinflamatuar sitokin seviyelerinin ölçülmesi için hücre pasajlaması yapıldı. Topikal diş jellerinin uygulanabilmesi için, hücre pasajlamasına 75 cm^2'lik flasklar ile devam edildi. Hücreler flask tabanına tutunana kadar 37°C, %5 CO2 değerlerindeki inkübatörde bekletildi. Hücrelerin flask tabanına tutunmasını kontrol etmek için ters mikroskop kullanıldı.

LD50 dozu belirlenen diş jellerinden tekrar taze stok hazırlandı. Diş jellerinin LD50 dozlarının uygulanabilmesi için öncelikle, 75 cm^2'lik flasklara ekilmiş hücrelerdeki besi yeri uzaklaştırıldı. Hazırlanmış olan diş jeli stokları, taze hazırlanan hücre besi yerinde çözdürüldü. Her çözdürülmüş olan diş jeli stoğu, iki adet 75 cm^2'lik tabanına yeterli sayıda hücre tutunmuş olan flasklara uygulandı. Her diş jeli uygulanan flask üzerine, diş jelinin adı, uygulanan örnek numarası ve saati not edildi. Sağlıklı gingival fibroblastlardan sitokin ölçümleri için 24 saatlik sürenin ideal olduğu göz önüne alınarak her diş jeli ve kontrol grubu için ikişer adet 75 cm^2'lik flask 37°C , %5 CO2 değerlerindeki inkübatörde 24 saat bekletildi (220).

3.3.1. Lizatların Hazırlanışı

Diş jellerine 24 saat maruz bırakılan flasklar, inkübatörden laminar akım kabinine alındı. Diş jellerine ve kontrol grubuna ait 14 adet 75 cm^2'lik flasklardan besi yerleri uzaklaştırıldı. Hücreleri flask zemininden kaldırmak için flasklara tripsin (2.5 ml %0.25) eklendi ve hafif çalkalama hareketleri ile hücreler serbestleştirildi. Süspansiyonlar pipetle toplandı ve örneklerden 25 °C'de, 1500 rpm'de beş dakikalık santrifüj sonunda pelet elde edildi. Hücre peleti, üç kez 10 ml PBS ile yıkandıktan sonra üzerine ısı kontrolü olacak şekilde üzerine soğuk 1 ml Lizis Buffer eklenerek hücrelerin parçalanması sağlandı (Şekil 3.12).

Şekil 3.12: Hücre lizatlarının hazırlanması

Parçalanan hücrelerden parçalanmamış hücre parçacıklarının ayrılması maksadıyla ham lizat 10.000 gravite (g)'de 10 dakika santrifüj edildi (Şekil 3.13) ve süpernant kısmı temiz ependorflara alınarak ELISA uygulaması yapılacak güne kadar -20 °C'de muhafaza edildi (Şekil 3.14).

Şekil 3.13: Ham lizatların santrifüj işlemi

Şekil 3.14: Muhafaza edilmek üzere hazırlanan hücre lizatı içerikli ependorflar

3.3.2. Bikinkoninik Asit (BCA) Protein Ölçüm Yöntemi ile Total Protein Tayini

Total proteininin kolorimetrik tespiti ve nicelendirilmesi için bikinkoninik asit (BCA) tayin yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde temel olarak iki tepkime oluşmaktadır. İlk tepkime, proteinlerindeki peptit bağlarının +2 yüklü bakır iyonunu +1 yüklü bakır iyonuna indirgemesidir ve sıcaklığa bağlı olarak gelişen bir reaksiyondur. Bir diğer tepkime ise, BCA'nın iki molekülü ile +1 yüklü bakır iyonunun birleşerek 562 nm'de mor renkli reaksiyon ürünü oluşturmasıdır (221).

Total protein tayini için BCA Protein Ölçüm Kiti (Takara Bio Inc., Otsu, Japonya) kullanıldı. Çalışma firmanın belirlediği protokol doğrultusunda gerçekleştirildi. BCA standart solüsyonu oda sıcaklığına getirilip vortekslendi. Reaktif A ve Reaktif B 37 °C'ye getirilerek kullanıma hazır hale getirildi. Reaktif A ve Reaktif B 100:1 oranında karıştırıldı (Şekil 3.15). BCA standart çözeltisinin seyreltilmesi için deiyonize su kullanılarak BCA standart solüsyonları hazırlandı (Şekil 3.16).

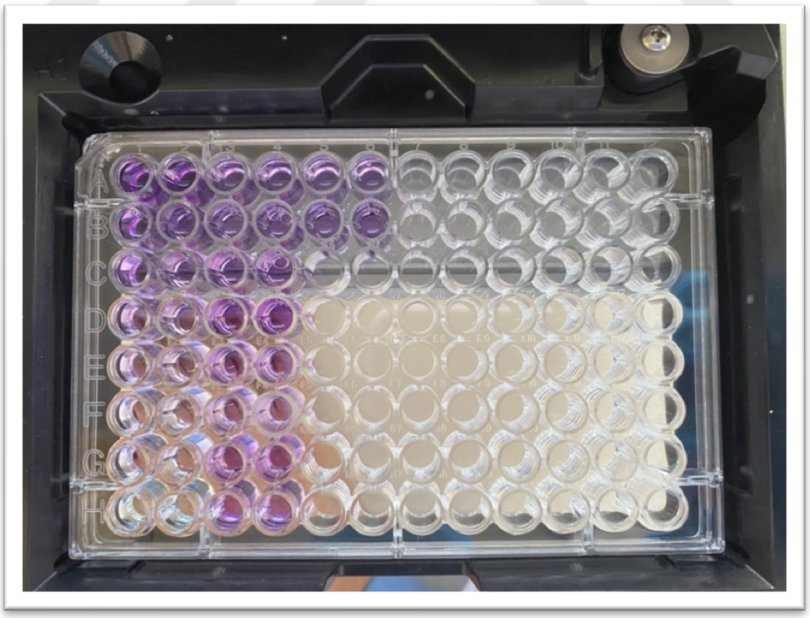
Şekil 3.15: BCA Protein ölçüm kitine ait Reaktif A ve Reaktif B

Şekil 3.16: BCA standartlarının hazırlanışı

Kuyucuklara, BCA standartlarından ve her bir örnekten 10 µl koyuldu (Tablo 3.2). Her konsantrasyon için iki tekrarlı ölçüm gerçekleştirildi. Standart ve numunelerin üzerine 200 µl çalışma solüsyonu eklenerek 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. ELISA mikroplaka okuyucuda (BioTek Epoch) 562 nm'de okutuldu (Şekil 3.17).

Tablo 3.2. BCA standartları

2 mg/ml BCA standart (µl)	Çözelti (µl)	Son konsantrasyon (µg/ml)
120	0	2000
90	30	1500
60	60	1000
45	75	750
15	105	250
10	150	125
0	120	0 (Blank)



Şekil 3.17: Total protein tayini için ELISA mikroplaka okuyucuya alınan 96 kuyucuklu mikroplaka

3.3.3. ELISA Yöntemi ile IL-1β, IL-6, IL-8, TNF- α ve IL-10 Sitokinlerinin Miktar Tayini

IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α ve IL-10 sitokinlerinin miktar tayini için her sitokine özgü olarak üretilen Human ELISA Kit (BT Lab, China) kullanıldı. (IL-1β Katalog no:E0143Hu ; IL-6 Katalog no:E0090Hu; IL-8 Katalog No: E0089Hu; TNF- α Katalog No:E0082Hu; IL-10 Katalog No:E0102Hu)

ELISA Kit içerisindeki üretici firmanın göndermiş olduğu kılavuza göre adımlar uygulandı.

3.3.3.1. Reaktif Hazırlama

Her sitokin için reaktif değerleri farklıdır ve üretici firmanın talimatları doğrultusunda hazırlanmıştır. Tüm reaktifler kullanımdan önce oda sıcaklığına getirilmelidir (Şekil 3.18).

Şekil 3.18: ELISA ölçümleri için kullanılacak olan test reaktifleri

IL-1β reaktifinin hazırlanması:

Standart 4000 pikogram/mililitre (pg/ml) stok solüsyonu oluşturmak için, orijinal standardın 120 µl'si (8000 pg/ml) 120 µl standart seyreltici ile sulandırıldı. Seyreltme öncesi, standart hafif çalkalama ile 15 dakika dinlendirildi. Farklı standartlar olan 2000 pg/ml, 1000 pg/ml, 500 pg/ml ve 250 pg/ml solüsyonları üretmek için standart stok

solüsyonu (4000 pg/ml) 1:2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltildi. Önerilen standart çözeltilerin seyreltilmesi Tablo 3.3'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3: IL-1β standart çözeltileri

4000 pg/ml	Standart No.5	120 µl Orijinal standart + 120µl Standart seyreltici
2000 pg/ml	Standart No.4	120 µl Standart No.5 + 120 µl Standart seyreltici
1000 pg/ml	Standart No.3	120 µl Standart No.4 + 120 µl Standart seyreltici
500 pg/ml	Standart No.2	120 µl Standart No.3 + 120 µl Standart seyreltici
250 pg/ml	Standart No.1	120 µl Standart No.2 + 120 µl Standart seyreltici

Standartlar için gereken 500 ml yıkama tamponunu elde etmek için, 20 ml yıkama tamponu konsantresi 25 kat deiyonize su ile seyreltildi.

IL-6 reaktifinin hazırlanması:

Standart 320 nanogram/litre (ng/L) stok solüsyonu oluşturmak için standartın 120 µl 'si (640 ng/L) 120 µl standart seyreltici ile sulandırıldı. Seyreltme yapmadan önce standart hafif çalkalama ile 15 dakika dinlendirildi. Farklı standartlar olan 160 ng/L, 80 ng/L, 40 ng/L ve 20 ng/L solüsyonları üretmek için standart stok solüsyonu (320 ng/L) 1:2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltildi. Önerilen standart çözeltilerin seyreltilmesi Tablo 3.4'te gösterilmiştir.

Tablo 3.4: IL-6 standart çözeltileri

320 ng/L	Standart No.5	120 µl Orijinal Standart + 120 µl Standart seyreltici
160 ng/L	Standart No.4	120 µl Standart No.5 + 120 µl Standart seyreltici
80 ng/L	Standart No.3	120 µl Standart No.4 + 120 µl Standart seyreltici
40 ng/L	Standart No.2	120 µl Standart No.3 + 120 µl Standart seyreltici
20 ng/L	Standart No.1	120 µl Standart No.2 + 120 µl Standart seyreltici

Standartlar için gereken 500 ml yıkama tamponunu elde etmek için, 20 ml yıkama tamponu konsantresi 25 kat deiyonize su ile seyreltildi.

IL-8 reaktifinin hazırlanması:

Standart 640 ng/L stok solüsyonu oluşturmak için standardın 120 µl 'si (1280 ng/L) 120 µl standart seyreltici ile sulandırıldı. Seyreltme yapmadan önce standart hafif çalkalama ile 15 dakika dinlendirildi. Farklı standartlar olan 320 ng/L, 160 ng/L, 80 ng/L ve 40 ng/L solüsyonları üretmek için standart stok solüsyonu (640 ng/L) 1:2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltildi. Önerilen standart çözeltilerin seyreltilmesi Tablo 3.5'te gösterilmiştir.

Tablo 3.5: IL-8 standart çözeltileri

640 ng/L	Standart No.5	120 µl Orijinal Standart + 120 µl Standart seyreltici
320 ng/L	Standart No.4	120 µl Standart No.5 + 120 µl Standart seyreltici
160 ng/L	Standart No.3	120 µl Standart No.4 + 120 µl Standart seyreltici
80 ng/L	Standart No.2	120 µl Standart No.3 + 120 µl Standart seyreltici
40 ng/L	Standart No.1	120 µl Standart No.2 + 120 µl Standart seyreltici

Standartlar için gereken 500 ml yıkama tamponunu elde etmek için, 20 ml yıkama tamponu konsantresi 25 kat deiyonize su ile seyreltildi.

TNF-α reaktifinin hazırlanması:

Standart 480 ng/L standart stok solüsyonu oluşturmak için 120 µl standart (960 ng/L) 120 µl standart seyreltici ile sulandırıldı. Seyreltme yapmadan önce standart hafif çalkalama ile 15 dakika dinlendirildi. Farklı standartlar olan 240 ng/L, 120 ng/L, 60 ng/L ve 30 ng/L solüsyonlarını üretmek için standart stok solüsyonu (480 ng/L) 1:2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltildi. Önerilen standart çözeltilerin seyreltilmesi Tablo 3.6'da gösterilmiştir.

Tablo 3.6: TNF-α standart çözeltileri

480 ng/L	Standart No.5	120 µl Orijinal standart + 120 µl Standart seyreltici
240 ng/L	Standart No.4	120 µl Standart No.5 + 120 µl Standart seyreltici
120 ng/L	Standart No.3	120 µl Standart No.4 + 120 µl Standart seyreltici
60 ng/L	Standart No.2	120 µl Standart No.3 + 120 µl Standart seyreltici
30 ng/L	Standart No.1	120 µl Standart No.2 + 120 µl Standart seyreltici

IL-10 reaktifinin hazırlanması:

Standart 800 pg/ml standart stok solüsyonu oluşturmak için 120 µl standart (1600 pg/ml) 120 µl standart seyreltici ile sulandırıldı. Seyreltme yapmadan önce standardın hafif çalkalama ile 15 dakika dinlendirildi. 400 pg/ml, 200 pg/ml, 100 pg/ml ve 50 pg/ml çözeltiler üretmek için standart stok solüsyonu (800 pg/ml) 1:2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltildi. Önerilen standart çözeltilerin seyreltilmesi Tablo 3.7'de gösterilmiştir.

Tablo 3.7: IL-10 standart çözeltileri

800 pg/ml	Standart No.5	120 µl Orijinal standart + 120 µl Standart seyreltici
400 pg/ml	Standart No.4	120 µl Standart No.5 + 120 µl Standart seyreltici
200 pg/ml	Standart No.3	120 µl Standart No.4 + 120 µl Standart seyreltici
100 pg/ml	Standart No.2	120 µl Standart No.3 + 120 µl Standart seyreltici
50pg/ml	Standart No.1	120 µl Standart No.2 + 120 µl Standart seyreltici

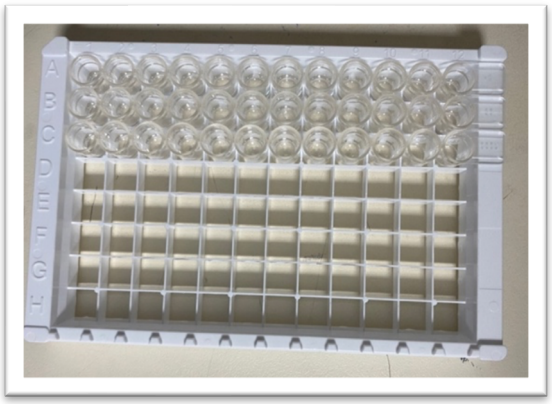
Standartlar için gereken 500 ml yıkama tamponunu elde etmek için, 20 ml yıkama tamponu konsantresi 25 kat deiyonize su ile seyreltildi.

3.3.4. Test Prosedürü

Reaktif hazırlanması farklı olan sitokinlerin, test prosedürleri için tüm basamaklar ortaktır.

1.Tüm reaktifler, standart solüsyonları ve numuneleri talimatlara göre hazırlandı. Uygulama oda sıcaklığında yapıldı.

2.Test için gereken ve kit içerisinden çıkan her sitokinin kendine ait tabanı sitokin kaplı strip mikroplak sayısı belirlendi ve yerleştirildi (Şekil 3.19).



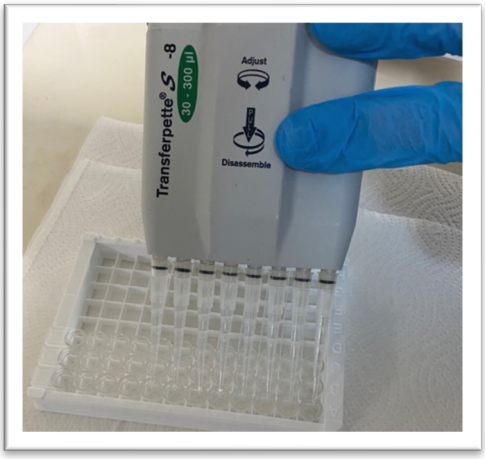
Şekil 3.19: Sitokin kaplı strip mikroplakalar

3. Standart kuyuya 50 µl standart eklendi. Standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, standart kuyuya antikor eklenmemiştir.

4. Numune kuyularına 40 µl numune eklendi. Ardından üzerine 10 µl her sitokine ait antikor eklendi ve son olarak numune kuyularına ve standart kuyulara 50 µl streptavidin-HRP eklendi. Blank olarak kabul edilen kontrol kuyusuna ekleme yapılmadı. İyice karıştırılarak, mikroplakanın yüzeyi örtüldü ve 37°C'de bir saat inkübe edildi.

5. Bir saat sonunda mikroplaka kapağı çıkarıldı ve plaka yıkama tamponu ile beş kere yıkandı (Şekil 3.20). Otomatik yıkama yapılmadan önce her kuyucuk aspire edildi ve yıkama tamponu ile otomatik yıkayıcıda beş kere yıkandı (Şekil 3.21).

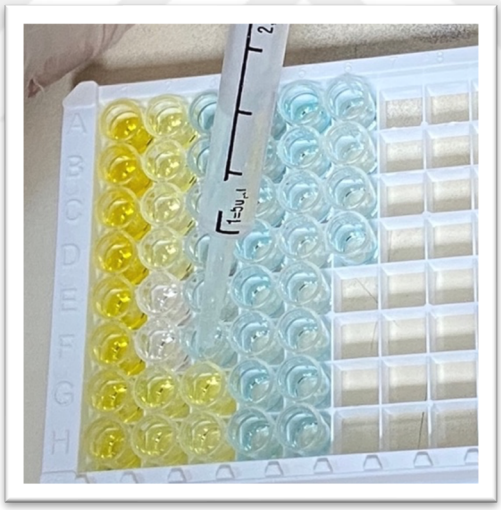
6. Her kuyuya 50 µl substrat solüsyonu A eklendi ve ardından her kuyuya 50 µl substrat solüsyonu B eklendi. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca yeni bir kapak ile kapatılan mikroplaka inkübe edildi.



Şekil 3.20: Yıkama tamponu ile yıkanan mikroplakalar

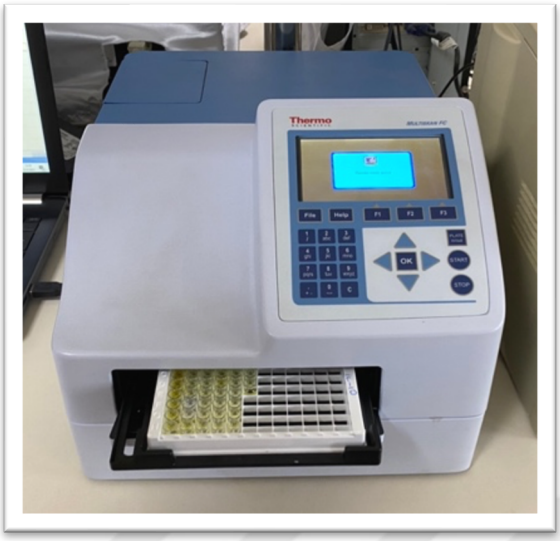
Şekil 3.21: Otomatik yıkayıcıya alınan mikroplakalar

7. Her kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi renkten sarı renge geçiş gözlendi (Şekil 3.22).



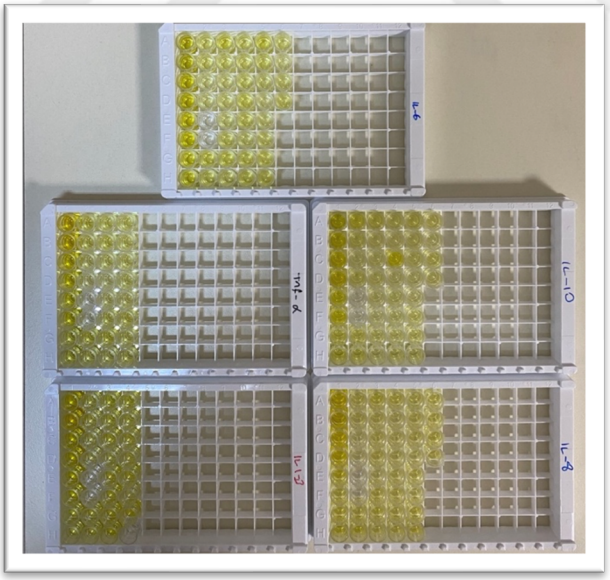
Şekil 3.22: Durdurma solüsyonu sonrası mavi-sarı renk geçişi

8. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroplaka okuyucu kullanarak hiç bekletmeden her kuyunun optik yoğunluğu (OD değeri) belirlendi (Şekil 3.23).



Şekil 3.23: Kuyucukların optik dansitelerinin belirlenmesi

ELISA uygulaması sonrası IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α ve IL-10 sitokinlerinin mikroplakalarına ait görüntüler Şekil 3.24'te gösterilmiştir.



Şekil 3.24: IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α ve IL-10 sitokinlerinin mikroplakalarına ait görüntüler

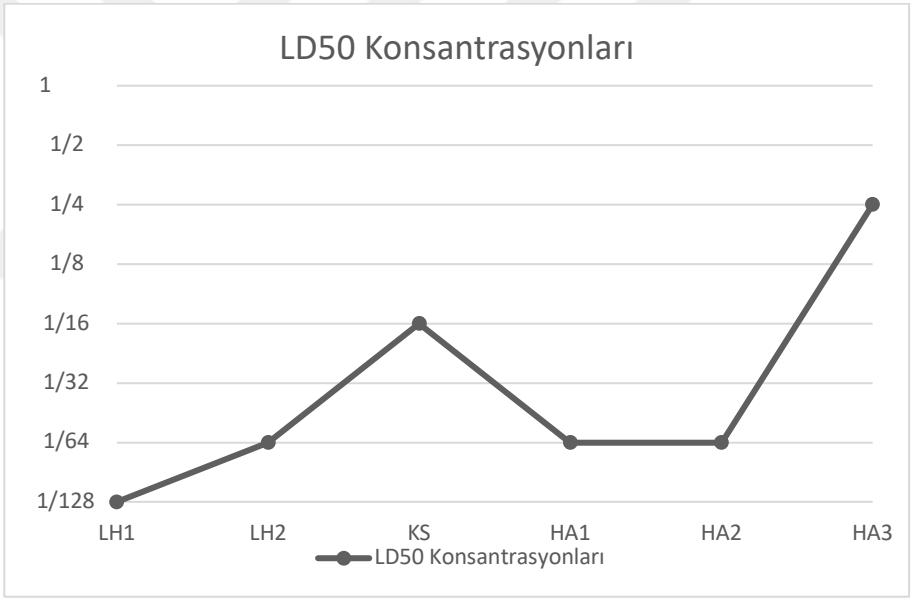
3.4. İstatistiksel Analizler

Çalışma kapsamında elde edilen veriler GraphPad Prism version 8.0.1 (GraphPad Software, Inc., CA, A.B.D) programı kullanılarak analiz edildi. Verilerin Kolmogorov-Smirnov testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri analiz edildi. Veriler normal dağılım gösterdiğinden, üç ya da daha fazla grubun kıyası maksadıyla parametrik testlerden One Way ANOVA testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişkilerin incelenmesi için post-hoc Dunnett's korelasyon analizi ve Tukey's çoklu karşılaştırma Ttsti yapıldı. $p<0,05$ istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Sitokin Seviyelerinin Ölçülmesi İçin Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanan Diş Jellerinin Sitotoksisite Değerleri

Çalışmamızda sitokin seviyelerinin ölçülmesi için farklı konsantrasyonlarda hazırlanan diş jellerinin in-vitro olarak MTT testi ile sitotoksik oranları belirlendi. Kuyucuklardaki hücrelerin %50'sinin canlı kaldığı konsantrasyon (LD50), sitokin seviyelerinin ölçüleceği konsantrasyon olarak kabul edildi ve bu değerler Şekil 4.1'de gösterildi.



Şekil 4.1: Topikal diş jellerine ait sitokin seviyelerinin ölçüleceği LD50 konsantrasyonları

(LH1: Lidokain içerikli diş jeli 1 , LH2: Lidokain içerikli diş jeli 2, KS: Kolin salisilat içerikli diş jeli, HA1: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 1, HA2: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 2, HA3: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 3)

Diş jellerinin HGF-1 hücrelerinin sitokin seviyeleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla belirlenen LD50 konsantrasyonları, LH1 grubu için 1/128; LH2 grubu için 1/64; KS grubu için 1/16; HA1 grubu için 1/64; HA2 grubu için 1/64; HA3 grubu için ise 1/4 olarak bulundu.

4.2. ELISA Yöntemi ile Belirlenen Proinflamatuar/Antiinflamatuar Sitokinlerin Analizi

4.2.1. IL-1β Bulguları

IL-1β protein değerleri, kontrol grubunda 0,774 pg/mg protein; LH1 grubunda 0,682 pg/mg protein; HA1 grubunda 0,559 pg/mg protein; LH2 grubunda 0,455 pg/mg protein; HA2 grubunda 0,406 pg/mg protein; KS grubunda 0,394 pg/mg protein; HA3 grubunda 0,293 pg/mg protein olarak tespit edildi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Topikal diş jeli gruplarına ait IL-1β bulguları

Gruplar	IL-1β (pg/mg protein)
Kontrol	0,774 ± 0,005
LH1	0,682 ± 0,161
HA1	0,559 ± 0,077
LH2	0,455 ± 0,125
HA2	0,406 ± 0,12
KS	0,394 ± 0,018
HA3	0,293 ± 0,014

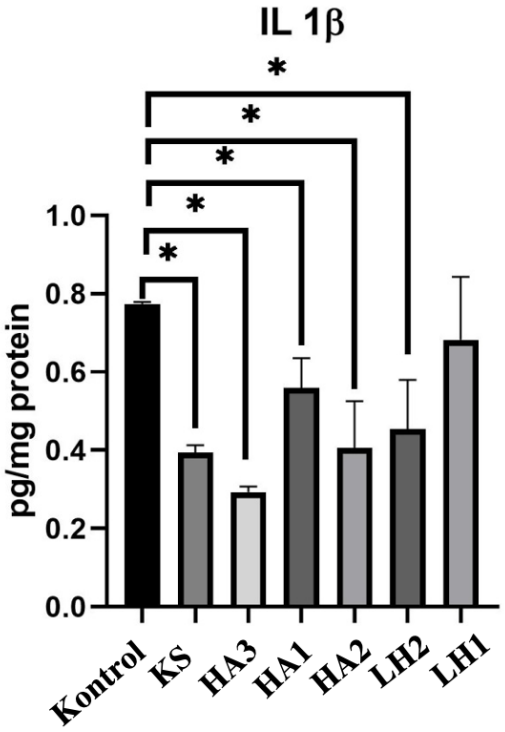
(LH1: Lidokain içerikli diş jeli 1 , LH2: Lidokain içerikli diş jeli 2, KS: Kolin salisilat içerikli diş jeli, HA1: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 1, HA2: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 2, HA3: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 3)

Bu verilere dayanılarak yapılan istatistiksel analizlerde; IL-1β protein değerleri, LH1 uygulanan grupta kontrol grubuna benzer bulunurken ($p=0,457$); KS grubunda ($p<0,0001$), HA3 grubunda ($p<0,0001$); HA1 grubunda ($p=0,006$); HA2 grubunda ($p<0,0001$) ve LH2 grubunda ($p<0,0001$) kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulundu. Bu sonuçlara göre IL-1β seviyelerinde sayısal olarak en fazla düşüşe HA3'ün neden olduğu, diğerlerinin ise sırasıyla; KS, HA2, LH2 ve HA1 olduğu gözlemlendi (Şekil 4.2 ve Tablo 4.2).

Tablo 4.2: Topikal diş jeli uygulanan grupların kontrol grubuna göre IL-1β bulguları açısından değerlendirilmesi

	Ortalama Fark (ng/mg protein)	**%95 Güven Aralığı**	**p Değeri**
Kontrol-LH1	0,092	-0,071-0,255	0,4568
Kontrol-KS	0,38	0,216-0,543	<0,0001*
Kontrol-HA3	0,481	0,317-0,644	<0,0001*
Kontrol-HA1	0,215	0,052-0,379	0,0063*
KontroL-HA2	0,368	0,205-0,531	<0,0001*
Kontrol-LH2	0,319	0,156-0,483	<0,0001*

One Way ANOVA, Dunnett's Çoklu Karşılaştırma Testi, *p<0,05



Şekil 4.2: Gruplar arası IL-1β bulgularının grafiksel gösterimi (*p<0,05)

4.2.2. IL-6 Bulguları

IL-6 protein düzeyleri, kontrol grubunda 0,039 ng/mg protein; HA3 grubunda 0,045 ng/mg protein; LH2 grubunda 0,026 ng/mg protein; HA1 grubunda 0,025 ng/mg protein; KS grubunda 0,024 ng/mg protein; LH1 grubunda 0,024 ng/mg protein; HA2 grubunda 0,017 ng/mg protein ve olarak bulundu (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Topikal diş jeli gruplarına ait IL-6 bulguları

Gruplar	IL-6 (ng/mg protein)
Kontrol	0,039 ± 0,007
HA3	0,045 ± 0,008
LH2	0,026 ± 0,008
HA1	0,025 ± 0,004
KS	0,024 ± 0,007
LH1	0,024 ± 0,005
HA2	0,017 ± 0,005

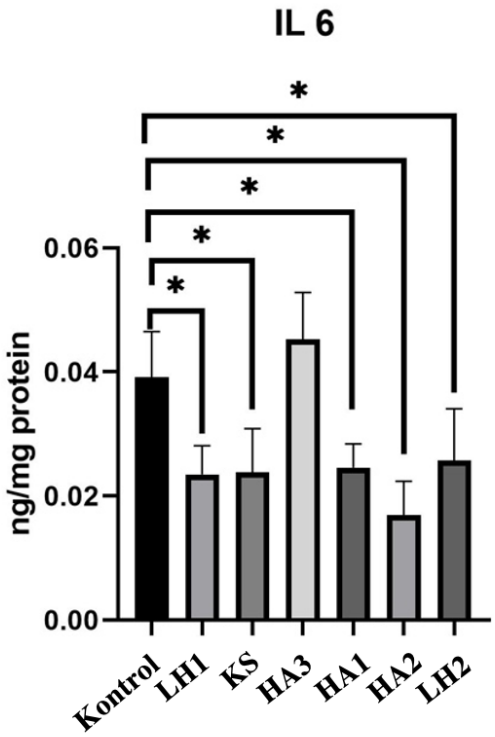
(LH1: Lidokain içerikli diş jeli 1 , LH2: Lidokain içerikli diş jeli 2, KS: Kolin salisilat içerikli diş jeli, HA1: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 1, HA2: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 2, HA3: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 3)

Bu verilere dayanılarak yapılan istatistiksel analizlerde; IL-6 protein değerleri HA3 uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla benzer bulunurken (p=0,4018); LH1 grubunda (p=0,001), KS grubunda (p=0013), HA1 grubunda (p=0,0023), HA2 grubunda (<0,0001), ve LH2 grubunda (p=0,0054) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha düşük olduğu tespit edildi. Bu sonuçlara göre IL-6 seviyelerinde sayısal olarak en fazla düşüşe HA2'nin neden olduğu diğerlerinin ise sırasıyla LH1, KS, HA1 ve LH2 olduğu analiz edildi (Tablo 4.4 ve Şekil 4.3) .

Tablo 4.4: Topikal diş jeli uygulanan grupların kontrol grubuna göre IL-6 bulguları açısından değerlendirilmesi

	Ortalama Fark (ng/mg protein)	**%95 Güven Aralığı**	**p Değeri**
Kontrol-LH1	0,016	0,006-0,026	0,0010*
Kontrol-KS	0,015	0,005-0,026	0,0013*
Kontrol-HA3	-0,006	-0,016-0,004	0,4018
Kontrol-HA1	0,015	0,005-0,025	0,0023*
Kontrol-HA2	0,022	0,012-0,032	<0,0001*
Kontrol-LH2	0,013	0,003-0,024	0,0054*

One Way ANOVA, Dunnett's Çoklu Karşılaştırma Testi, *p<0,05



Şekil 4.3: Gruplar arası IL-6 bulgularının grafiksel gösterimi (*p<0,05)

4.2.3. IL-8 Bulguları

IL-8 protein düzeylerinin Kontrol grubunda 0,151 ng/mg protein; HA3 grubunda 0,128 ng/mg protein; KS grubunda 0,082 ng/mg protein; LH1 grubunda 0,076 ng/mg protein; HA1 grubunda 0,071 ng/mg protein; LH2 grubunda 0,056 ng/mg protein; HA2 grubunda 0,047 ng/mg protein olduğu tespit edildi (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Topikal diş jeli gruplarına ait IL-8 bulguları

Gruplar	IL-8 (ng/mg protein)
Kontrol	0,151 ± 0,008
HA3	0,128 ± 0,009
KS	0,082 ± 0,017
LH1	0,076 ± 0,015
HA1	0,071 ± 0,013
LH2	0,056 ± 0,003
HA2	0,047 ± 0,007

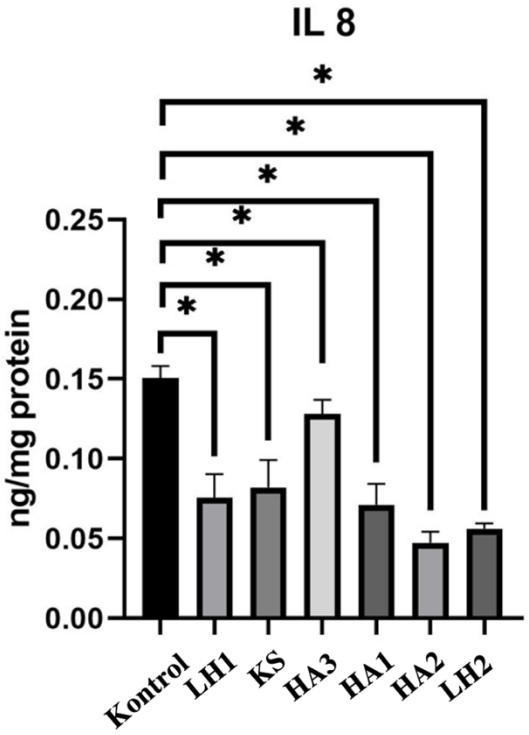
(LH1: Lidokain içerikli diş jeli 1 , LH2: Lidokain içerikli diş jeli 2, KS: Kolin salisilat içerikli diş jeli, HA1: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 1, HA2: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 2, HA3: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 3)

Bu verilere dayanılarak yapılan istatistiksel analizlerde; IL-8 protein değerlerinin HA2 grubunda ($p<0,0001$); LH2 grubunda ($p<0,0001$); HA1 grubunda ($p<0,0001$); LH1 grubunda ($p<0,0001$); KS grubunda ($p<0,0001$) ve HA3 grubunda ($p=0,0197$) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha düşük olduğu tespit edildi.Bu sonuçlara göre IL-8 seviyelerinde sayısal olarak en fazla düşüşe HA2'nin neden olduğu diğerlerinin ise sırasıyla LH2, HA1, LH1, KS, HA3 olduğu bulundu (Tablo 4.6 ve Şekil 4.4).

Tablo 4.6: Topikal diş jeli uygulanan grupların kontrol grubuna göre IL-8 bulguları açısından değerlendirilmesi

	Ortalama Fark (ng/mg protein)	%95 Güven Aralığı	p Değeri
Kontrol-LH1	0,075	0,056-0,094	<0,0001*
Kontrol-KS	0,068	0,049-0,088	<0,0001*
Kontrol-HA3	0,022	0,003-0,042	0,0197*
Kontrol-HA1	0,079	0,06-0,099	<0,0001*
Kontrol-HA2	0,103	0,083-0,122	<0,0001*
Kontrol-LH2	0,094	0,075-0,114	<0,0001*

One Way ANOVA, Dunnett's Çoklu Karşılaştırma Testi, *p<0,05



Şekil 4.4: Gruplar arası IL-8 bulgularının grafiksel gösterimi(*p<0,05)

4.2.4. TNF-α bulguları

TNF-α protein düzeylerinin Kontrol grubunda 0,082 ng/mg protein; HA1 grubunda 0,069 ng/mg protein; LH1 grubunda 0,057 ng/mg protein; HA3 grubunda 0,048 ng/mg protein; KS grubunda 0,041 ng/mg protein; LH2 grubunda 0,033 ng/mg protein; HA2 grubunda 0,024 ng/mg protein olduğu tespit edildi (Tablo 4.7).

Tablo 4.7: Topikal diş jeli gruplarına ait TNF-α bulguları

Gruplar	TNF-α (ng/mg protein)
Kontrol	0,082 ± 0,001
HA1	0,069 ± 0,014
LH1	0,057 ± 0,007
HA3	0,048 ± 0,005
KS	0,041 ± 0,016
LH2	0,033 ± 0,003
HA2	0,024 ± 0,005

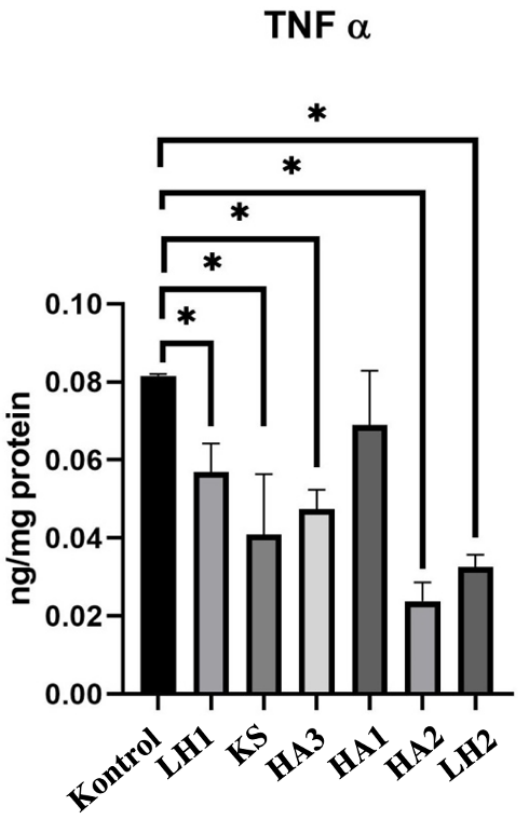
(LH1: Lidokain içerikli diş jeli 1 , LH2: Lidokain içerikli diş jeli 2, KS: Kolin salisilat içerikli diş jeli, HA1: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 1, HA2: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 2, HA3: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 3)

Bu verilere dayanılarak yapılan istatistiksel analizlerde; TNF-α protein değerleri HA1 uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla benzer bulunurken ($p=0,2825$); LH1 grubunda ($p=0,0093$), KS grubunda ($p<0,0001$), HA3 grubunda ($p=0,0004$), HA2 grubunda ($p<0,0001$) ve LH2 grubunda ($p<0,0001$) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüşe yol açtığı tespit edildi. Bu sonuçlara göre TNF-α seviyelerinde sayısal olarak en fazla düşüşe HA2'nin neden olduğu diğerlerinin ise sırasıyla; LH2, KS, HA3 ve LH1 olduğu gözlemlendi (Şekil 4.5 ve Tablo 4.8).

Tablo 4.8: Topikal diş jeli uygulanan grupların kontrol grubuna göre TNF-α bulguları açısından değerlendirilmesi

	Ortalama Fark (ng/mg protein)	%95 Güven Aralığı	p Değeri
Kontrol-LH1	0,025	0,005-0,044	0,0093*
Kontrol-KS	0,041	0,022-0,059	<0,0001*
Kontrol-HA3	0,034	0,015-0,053	0,0004*
Kontrol- HA1	0,013	-0,006-0,032	0,2825
Kontrol-HA2	0,058	0,039-0,077	<0,0001*
Kontrol-LH2	0,049	0,03-0,068	<0,0001*

One Way ANOVA, Dunnett's Çoklu Karşılaştırma Testi, *p<0,05



Şekil 4.5: Gruplar arası TNF-α bulgularının grafiksel gösterimi (*p<0,05)

4.2.5. IL-10 Bulguları

IL-10 protein düzeyleri kontrol grubunda 3,219 pg/mg protein; HA3 grubunda 3,023 pg/mg; LH1 grubunda 2,53 pg/mg protein; LH2 2,073 pg/mg protein; HA1 1,940 pg/mg protein; KS grubunda 1,827 pg/mg protein; HA2 1,353 pg/mg protein olarak bulundu (Tablo 4.9).

Tablo 4.9: Topikal diş jeli gruplarına ait IL-10 bulguları

Gruplar	IL-10 (pg/mg protein)
Kontrol	3,219 ± 0,107
HA3	3,023 ± 0,130
LH1	2,530 ± 0,131
LH2	2,073 ± 0,323
HA1	1,940 ± 0,147
KS	1,827 ± 0,180
HA2	1,353 ± 0,154

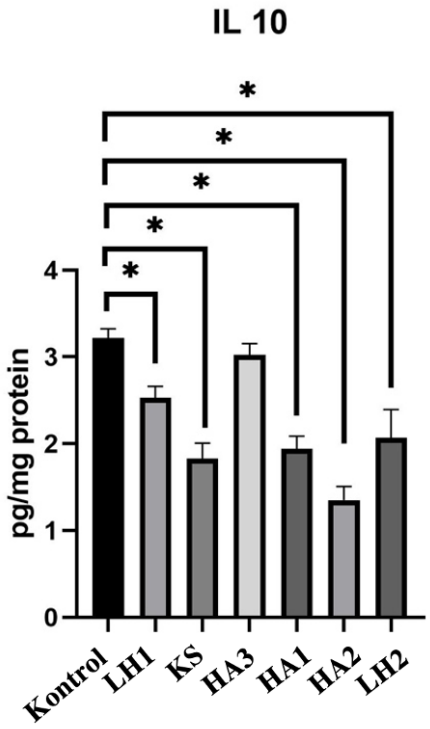
(LH1: Lidokain içerikli diş jeli 1 , LH2: Lidokain içerikli diş jeli 2, KS: Kolin salisilat içerikli diş jeli, HA1: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 1, HA2: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 2, HA3: Hyaluronik asit içerikli diş jeli 3)

Bu verilere dayanılarak yapılan istatistiksel analizlerde; IL-10 protein değerleri; HA3 uygulanan grupta kontrol grubuna göre benzer bulunurken (p=0,7229); HA2 grubunda (<0,0001); KS grubunda (<0,0001); HA1 grubunda (<0,0001); LH2 grubunda(<0,0001) ve LH1 grubunda (<0,0001) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüşe yol açtığı tespit edildi. Bu sonuçlara göre IL-10 seviyelerinde sayısal olarak en fazla düşüşe HA2'nin neden olduğu diğerlerinin ise sırasıyla; KS, HA1, LH2, LH1 olduğu gözlemlendi (Tablo 4.10 ve Şekil 4.6).

Tablo 4.10: Diş jeli uygulanan grupların kontrol grubuna göre IL-10 bulguları açısından değerlendirilmesi

	Ortalama Fark (ng/mg protein)	%95 Güven Aralığı	p Değeri
Kontrol-LH1	0,689	0,275-1,103	0,0004*
Kontrol-KS	1,392	0,978-1,806	<0,0001*
Kontrol-HA3	0,195	-0,219-0,61	0,7229
Kontrol-HA1	1,279	0,865-1,693	<0,0001*
Kontrol-HA2	1,865	1,451-2,279	<0,0001*
Kontrol-HA1	1,145	0,731-1,559	<0,0001*

* One Way ANOVA, Dunnett's Çoklu Karşılaştırma Testi, *p<0,05



Şekil 4.6: Gruplar arası IL-10 bulgularının grafiksel gösterimi (*p<0,05)

Topikal diş jeli preparatlarının HGF-1 hücrelerinin sitokin düzeyleri üzerine etkileri kontrol grubu ile kıyaslandığında;

IL-1β'nın, LH1 grubu hariç; diğer topikal diş jeli gruplarının uygulandığı HGF-1 hücrelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

IL-6'nın, HA3 grubu hariç; diğer topikal diş jeli gruplarının uygulandığı HGF-1 hücrelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

IL-8'in, tüm topikal diş jeli gruplarının uygulandığı HGF-1 hücrelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

TNF-α'nın, HA1 hariç; diğer topikal diş jeli gruplarının uygulandığı HGF-1 hücrelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

IL-10'un, HA3 hariç; diğer topikal diş jeli gruplarının uygulandığı HGF-1 hücrelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

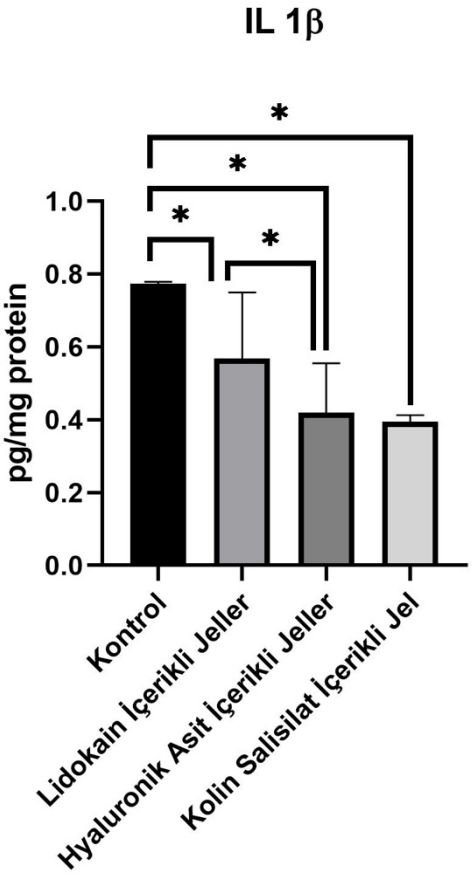
4.2.6. Topikal Diş Jellerinin İçeriklerine Göre Sitokin Seviyelerinin Karşılaştırılması

HGF-1 hücrelerinin sitokin seviyeleri topikal diş jellerinin içeriklerine göre değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre üç içerik için de IL-1β seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük bulundu (lidokain içerikli grup $p=0,0412$; hyaluronik asit içerikli grup $p<0,0001$; kolin salisilat grubu $p=0,0005$). Hyaluronik asit grubunda, lidokain grubuna göre IL-1β seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0,0489$).

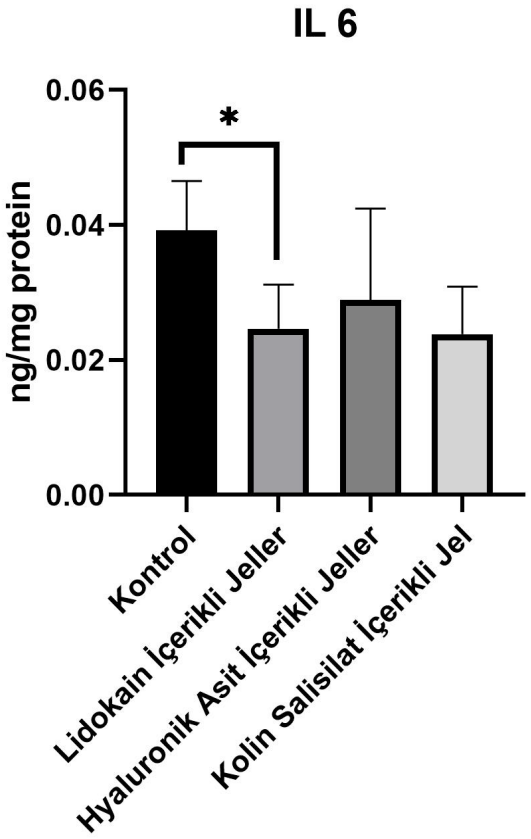
Lidokain ve kolin salisilat grupları ile hyaluronik asit ve kolin salisilat grupları arasında ise IL-1β açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Lidokain-kolin salisilat

p=0,1043; hyaluronik asit-kolin salisilat p=0,9837). Topikal diş jeli içeriklerinin IL-1β sitokin seviyeleri Şekil 4.7'de gösterilmiştir.



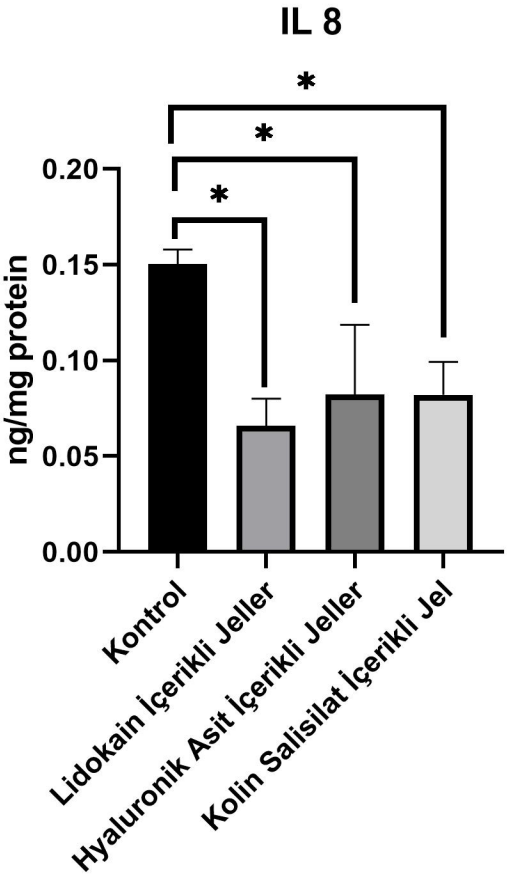
Şekil 4.7: Topikal diş jeli içeriklerinin IL-1β sitokin seviyelerinin grafiksel gösterimi (*p<0,05)

IL-6 seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş sadece lidokain içerikli diş jeli grubunda oldu (p=0,0371). 3 diş jeli grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (lidokain-hyaluronik asit p=0,6822; lidokain-kolin salisilat p=0,9986; hyaluronik asit-kolin salisilat p=0,7212). Topikal diş jeli içeriklerinin IL-6 sitokin seviyeleri Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



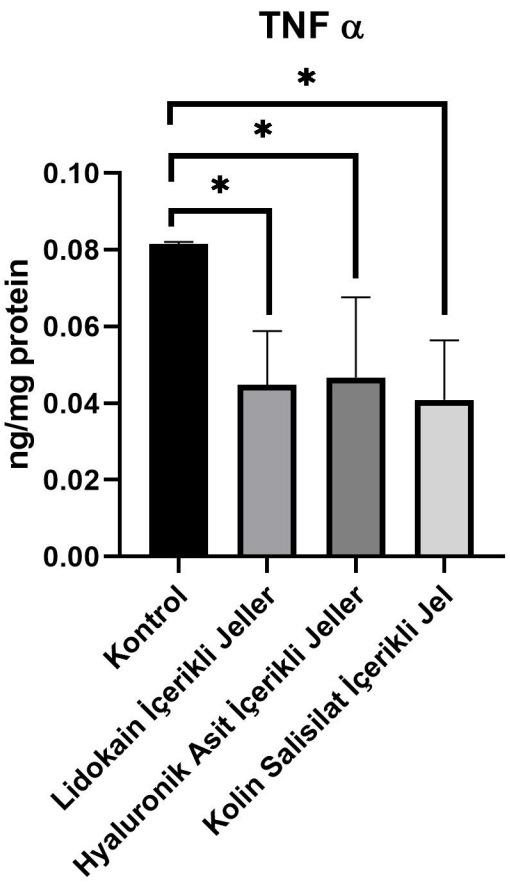
Şekil 4.8: Topikal diş jeli içeriklerinin IL-6 sitokin seviyelerinin grafiksel gösterimi (*p<0,05)

Kontrol grubuna göre üç içerik için de IL-8 seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük bulundu (p<0,0001). Fakat üç diş jeli IL-8 düzeylerini düşürmeleri açısından değerlendirildiğinde, birbiri arasında istatistiksel anlamlı olacak şekilde bir farklılık tespit edilmedi (lidokain-hyaluronik asit p=0,3706; lidokain-kolin salisilat p=0,6297; hyaluronik asit-kolin salisilat p=0,9999). Topikal diş jeli içeriklerinin IL-8 sitokin seviyeleri Şekil 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9: Topikal diş jeli içeriklerinin IL-8 sitokin seviyelerinin grafiksel gösterimi (*p<0,05)

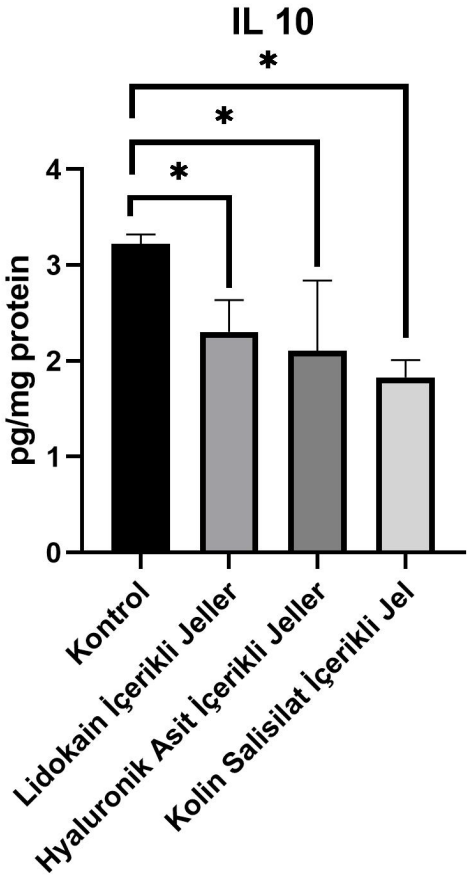
TNF-α seviyeleri, üç diş jeli grubunda da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (lidokain p=0,0002, hyaluronik asit p=0,0001, kolin salisilat p=0,0008). Ancak üç diş jeli grubu birbirine göre kıyaslandığında TNF-α açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (lidokain-hyaluronik asit p=0,9922; lidokain-kolin salisilat p=0,9756; hyaluronik asit-kolin salisilat p=0,9112). Topikal diş jeli içeriklerinin TNF-α sitokin seviyeleri Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



Şekil 4.10: Topikal diş jeli içeriklerinin TNF-α sitokin seviyelerinin grafiksel gösterimi (*p<0,05)

IL-10 seviyeleri kontrol grubuna göre üç diş jeli grubunda da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (lidokain p=0,0049, hyaluronik asit p=0,0002, kolin salisilat p=0,0005). Ancak üç diş jeli grubu birbirine göre kıyaslandığında IL-10 açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (lidokain-hyaluronik asit p=0,8216; lidokain-kolin salisilat p=0,4139; hyaluronik asit-kolin salisilat p=0,7647). Topikal diş jeli içeriklerinin IL-10 sitokin seviyeleri Şekil 4.11'de gösterilmiştir.

Topikal diş jellerinin içeriklerine göre sitokin seviyelerinin karşılaştırılması Tablo 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11: Topikal diş jeli içeriklerinin IL-10 sitokin seviyelerinin grafiksel gösterimi (*p<0,05)

Tablo 4.11: HGF-1 hücrelerinin sitokin seviyelerinin topikal diş jellerinin içeriklerine göre değerlendirilmesi

	Kontrol	**LH içeriği**	**HA içeriği**	**KS içeriği**
IL-1β	0,774 ± 0,005^{a}	0,568 ± 0,181^{b}	0,419 ± 0,136^{c}	0,394± 0,018^{bc}
IL-6	0,039 ± 0,007^{a}	0,025 ± 0,007^{b}	0,029 ± 0,014^{ab}	0,024 ± 0,007^{ab}
IL-8	0,151 ± 0,007^{a}	0,066 ± 0,014^{b}	0,082 ± 0,036^{b}	0,082± 0,017^{b}
TNF-α	0,082± 0,001^{a}	0,045± 0,0140^{b}	0,047 ± 0,021^{b}	0,041 ± 0,016^{b}
IL-10	3,219 ± 0,099^{a}	2,302 ± 0,334^{b}	2,106 ± 0,734^{b}	1,827 ± 0,181^{b}

One-way ANOVA, Tukey's çoklu karşılaştırma testi, a-c, aynı harfe sahip sütun değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0,05).

5. TARTIŞMA

Günümüzde topikal diş jelleri, ağız içi lezyonlarda ağrının azaltılması ve iyileşme sürecinin hızlandırılması, periodontal doku hastalıklarının tedavisi ve bebeklerde diş sürme döneminde görülen diş eti inflamasyonu gibi birçok oral mukoza hastalıklarında kullanılmaktadır. Piyasada bulunan farklı içeriklere sahip ticari topikal diş jeli preparatlarının, analjezik, anestezik ve anti-inflamatuar etkileri sayesinde oral mukozadaki ve diş etindeki lokal semptomları giderdiği düşünülmektedir (80,124,137–139). Diş eti inflamasyonu gibi lokal semptomlar ve dokuyu korumaya yönelik gelişen fizyolojik aktiviteler, epitelyal hücreler, gingival fibroblastlar ve diş etine infiltre olan immün hücrelerden sentezlenen pro-inflamatuar sitokinler ve anti-inflamatuar sitokinler tarafından düzenlenmektedir (11–15). Ulaşılabilir mevcut literatürde, diş jellerinin, diş eti inflamasyonunda aktif rol oynayan sitokinler üzerindeki etkinliğini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Bu doğrultuda çalışmamızda, topikal diş jelleri uygulanan insan gingival fibroblast hücrelerinin IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α ve IL-10 sitokin seviyelerinin in-vitro olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Sitokin üretiminin ve salınımının deneysel olarak in-vivo incelenmesinde, sitokinlerin birçoğunun geçici ve lokal etkileri sebebiyle birtakım zorluklar mevcuttur. Organlar veya dokulardaki sitokinlerin plazmalardan ölçülmesinin zorluk göstermesi sebebiyle, ilaç etkenlerinin değerlendirilebilmesi için canlı dokuların fizyolojik durumlarını taklit edebilen in-vitro hücre kültürü testleri tercih edilebilmektedir (212,213). İn-vitro testlerin bireysel faktörlerden etkilenmeksizin hızlı bir şekilde uygulanabilmesi ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilmesi, standardizasyonunun kolay olması, uygulanabilirliğinin ucuz olması ve farmakolojik preparatlar açısından kıyaslama yapılabilmesi açısından sıklıkla tercih edilmektedir. Ayrıca in-vitro kültür testleri, hücresel olayların diğer fizyolojik faktörler olmaksızın incelenebilmesine olanak tanımaktadır (222,223). Çalışmamızda da diş jellerinin sitokin seviyeleri üzerindeki etkilerine dair ölçümler in-vitro olarak hücre kültüründe yapılmışır.

Deneysel olarak hücre kültürü çalışmalarında materyallerin direkt olarak temasta bulunduğu doku hücreleri sıklıkla tercih edilmektedir. Bu çalışmalarda, primer hücre

kültürü veya devamlı hücre hatları tercih edilebilmektedir. HGF-1 gibi devamlı hücre hatları, primer hücre hatlarına göre daha kolay elde edilebilir, proliferasyon hızı daha yüksektir ve daha stabildir (224–228). Gingival fibroblastlar, diş eti bağ dokusunda işlevsel olarak en önemli hücrelerden birisidir ve bağ dokusundaki hücrelerin %65'ini oluşturmaktadır (229). Fizyolojik koşullar altında gingival fibroblastlar hücre dışı matriksi üretmekte ve homeostazı sürdürmektedir. Bu nedenle fibroblast hücreleri dişetinin yapısını ve doku bütünlüğünü korumak için çok önemlidir (230). Çalışmamızda ise topikal diş jellerinin diş etine direkt olarak temas etmesi ve devamlı hücre kültürü hattı olması sebebiyle insan gingival fibroblast hücreleri tercih edilmiştir. Çalışmamızda HGF-1 hücreleri, hücre proliferasyonu ve metabolik aktivitesinin etkilenmemesi amacıyla bakteriyel bir uyarana maruz bırakılmamış ve sağlıklı gingival fibroblastlara topikal diş jelleri uygulanmıştır (231). Aynı zamanda, diş jellerinin farklı patolojik ve fizyolojik durumlarda kullanımları sebebiyle in-vitro olarak spesifik bir inflamasyon modeli gerçekleştirilmemiş ve çalışmamızda sağlıklı HGF-1 hücreleri tercih edilmiştir

Farmakolojik preparatların etkisinin tam olarak değerlendirilmediği ve daha öncesinde yapılan çalışmaların bulunmadığı durumlarda, preparatların sitotoksik dozlarından biri olan ve hücrelerin %50'sinin sağ kalımını, %50'sinin ölmesi sağlayan konsantrasyonların (LD50) belirlenmesi önerilmektedir (232). Materyallerin sitotoksik dozlarının belirlenebildiği hücre metabolizma değerlendirme testleri, hassas olması, uzun dönem sonuçlarının elde edilebilmesi gibi avantajlara sahip olması sebebiyle sıklıkla tercih edilmektedir (233,234). Hücre metabolizma değerlendirme testlerinden biri olan MTT testi, günümüzde en sık kullanılan sitotoksisite değerlendirme testlerinin başında gelmektedir ve diş hekimliğindeki sitotoksisite çalışmaları incelendiğinde MTT testinin sıklıkla kullanıldığı görülmektedir. MTT testi, ucuz, güvenilir, uygulanması basit bir testtir, tekrarlanabilir sonuçlar verir ve hassas bir test olması nedeniyle düşük dozlarda oluşan toksik etkinin ölçülebilmesini sağlamaktadır (235). Çalışmamızda, MTT testiyle diş jellerinin canlılık değerleri belirlenerek, LD50 değerini veren en yakın konsantrasyonlar tercih edilmiştir. Çalışmamızdaki incelenen preparatların sitokin seviyelerinin LD50 konsantrasyonlarında ölçülmesinde, bu preparatların kimyasal içerik ve dozlarına dair yeterli bilgi bulunmaması, ana etken maddelerine dair moleküler ağırlıklarının bilinmemesi ve yapısal olarak birbirlerinden farklı özelliklere sahip olmaları

sebebiyle değişkenlerin standardizasyonunu sağlamak amaçlanmıştır. Çalışmamızda standardizasyonun sağlandığı LD50 dozları, HA3 için 1:4, KS için 1:16, HA1 için 1:64, HA2 için 1:64, LH2 için 1:64, LH1 için ise 1:128 olarak bulunmuştur.

Sitokinlerin ölçümü ve tespiti, sitokin biyolojisi, biyokimyası, bu moleküllerin patolojiye olası katılımı için gerekmektedir (236). Aynı zamanda sitokinler, bağışıklık sistemini veya inflamasyonu etkileyen tedavi amaçlı kullanılan farmakolojik preparatların etkisini değerlendirmek için önemli biyobelirteçlerdir (212). Sitokinlerin doğru ve hassas ölçümleri için ELISA, standart sitokin ölçüm yöntemi olarak kabul edilmiş olup, klinik laboratuvarlarda ve biyomedikal araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Yaygın olarak ölçülen sitokinler için ELISA kitlerinin birden fazla üretici firma tarafından temin edilebilmesinin yanı sıra, ELISA'nın ek bir avantajı da sonuçların yüksek oranda kantitatif ve genellikle tekrarlanabilir olmasıdır. Bununla birlikte birçok sağlık kuruluşunda da uygulanabilir olması nedeniyle ulaşılabilirliği yüksektir (237). Bu nedenle, çalışmamızda, diş jellerinin HGF-1 hücrelerinden salınan ve inflamatuar süreci yöneten sitokinler olan IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α ve IL-10'un üzerindeki etkinliğinin tespiti için ELISA yöntemi tercih edilmiştir.

IL-1β , gingival fibroblastlardan, periodontal ligamentlerden ve osteoblastlardan salınan akut inflamasyonda rol oynayan endojen pirojen bir sitokindir. Çalışmalarda, diş eti inflamasyonu bulunan yetişkin hastaların diş eti oluğu sıvısındaki IL-1ß seviyelerindeki artışın, gingival inflamasyonla doğrudan bir ilişkisi olduğu bildirilmektedir (167–169,238). Diş sürme periyodundaki farelerin incelendiği bir çalışmada, bu sürecin diş etinde IL-1β seviyesindeki artışla başladığı ve devam eden bir inflamasyon süreci olduğu bildirilmiştir (166). IL-1β seviyelerindeki artış aynı zamanda, hipotalamustan PGE2 salınmasıyla vücut sıcaklığının artışına ve lokal inflamasyon bölgesindeki mast hücrelerinden histamin salınımına sebep olarak damarlarda vazodilatasyona sebep olmaktadır (163,164). Çalışmamızda, ELISA yöntemi ile topikal diş jelleri uygulanan HGF-1 hücrelerinin IL-1β seviyeleri değerlendirilmiştir. Jeller içeriklerine göre değerlendirildiğinde, hepsinin kontrol grubuna kıyasla IL- 1β seviyelerinde anlamlı bir düşüşe neden olduğu bulunmuştur. Hyaluronik asit grubunun ise, lidokain grubuna göre IL-1β seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde

düşürdüğü tespit edilmiştir. Preparatlara göre değerlendirildiğinde ise, LH1 hariç tüm diş jellerinin IL-1β seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur.

Yapılan farklı klinik ve in vitro çalışmalarda, lidokainin lenfositler tarafından salınan pro-inflamatuar mediatör salınımının modülasyonu yoluyla anti-inflamatuar etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (239–243). Lidokain içerikli bir diş jelinin (Dynexan Mundgel®, Kreussler Pharma, Almanya) incelendiği bir çalışmada, 6 ay-8 yaş arası çocuklarda lidokainin plasebo bir diş jeline göre aftöz ülserler, diş eti inflamasyonu veya diş çıkarma lokal semptomları üzerinde etkili bulunduğu bildirilmiştir (124). Çalışmamızda iki farklı lidokain içerikli diş jeli kullanılmış, LH2 kontrol grubuna göre IL-1β seviyelerini daha fazla düşürürken, LH1 kontrol grubu ile benzer sonuçlar sergilemiştir. LH2'nin IL-1β üzerine etkisinin LH1'den fazla olması; içeriğinde bulunan ve yüzyıllardır anti-inflamatuar özelliği olduğu bilinen papatya çiçeğinin çözünmüş bir versiyonu olan kamomil tentürü ile ilişkilendirilebilir (244–247).

Erişilebilir literatürde LH1'in IL-1β seviyeleri üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızın bulgularını destekler nitelikte olan ve Rusya'da yürütülen randomize kontrollü klinik bir çalışmada ise, LH1 ile bitkisel içerikli bir diş jelinin (Dantinorm Baby®, Boiron, Fransa) çocuklardaki diş çıkarma semptomları üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Hem hekimler hem de ebeveynler tarafından inflame ve ağrılı diş etleri gibi semptomların iyileşmesinde bitkisel içerikli diş jeli, LH1'e kıyasla daha başarılı bulunmuş, LH1 grubunda semptomların daha uzun sürdüğü ve istenmeyen yan etkilerle karşılaşıldığı bildirilmiştir (248).

Çalışmamızda hyaluronik asit içerikli diş jellerinin, lidokain içerikli diş jellerine kıyasla IL-1β seviyelerinde daha fazla düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir. HA3 ve LH1'in bebeklerdeki semptomları gidermeye yönelik etkinliklerinin değerlendirildiği klinik bir çalışmada da, bulgularımızla benzer şekilde HA3'ün diş etinde ağrı, şişlik, kızarıklık gibi semptomları daha hızlı bir şekilde azalttığı bildirilmiştir (249).

Çalışmamızın sonuçları ile uyumlu olarak Chen ve ark. (250), farklı molekül ağırlıklarındaki hyaluronik asitlerin IL-1β seviyeleri üzerinde anlamlı düzeyde düşüşe

sebep olduğunu bildirmişlerdir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, insan diş etine benzer özellik taşıyan fare kulaklarında oluşturulan deneysel inflamasyonda, hyaluronik asitin IL-1β seviyelerinde düşüşe yol açtığı tespit edilmiştir (251). Aynı zamanda, peri-implantitis hastalarının diş eti oluğu sıvısında IL-1β seviyelerinde, hyaluronik asit uygulamaları sonrasında, uygulama öncesine göre anlamlı bir düşüşün olduğu bildirilmiştir (252).

Hyaluronik asitin, prostaglandin yolunun iç dengesini bozmadan, pro-inflamatuar moleküllerini inhibe ederek inflamasyonu baskıladığı bildirilmiştir (253). Bu bağlamda hyaluronik asitin anti-inflamatuar özelliğini, NF-κB ile mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) sinyal yollarını inhibe ederek ve NF-κB'nin eksprese ettiği IL-1β gibi inflamatuar yanıtla ilişkili sitokinlerin genlerini baskılayarak gösterdiği düşünülmektedir (254,255).

Çalışmamızda kullanılan kolin salisat içerikli diş jeli de IL-1β seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe neden olmuştur. Farklı alanlarda yapılan çalışmalarda, vücuda alınan salisilatların analjezik, anti-piretik ve anti-inflamatuar etkiye sahip olduğu ve göz damlaları içerisinde bulunan kolin salisilatın, IL-1β gibi pro-inflamatuar sitokin seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir (256–258). Kolin salisilat içerikli diş jellerinin oral lezyonlar ve diş sürmesine bağlı görülen diş eti inflamasyonunun tedavisinde kullanılabildiği bildirilmesine rağmen; kolin salisilat içerikli diş jellerinin IL-1β seviyeleri üzerine etki mekanizmasının açıklanabilmesi için in-vivo ve in-vitro çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Mukozal immün yanıtta önemli bir rol oynayan IL-6, endotel hücreleri, keratinositler ve fibroblastlar tarafından sentezlenmektedir (159). Diş eti inflamasyon varlığında sağlıklı dokuya göre artış gösteren IL-6, diğer pro-inflamatuar sitokinler ile birlikte inflamatuar sürecin belirtecidir ve IL-1β tarafından sentezi artırılmaktadır (163,174). Lokalize etkilerinin yanı sıra, hipotalamusu etkileyerek vücut sıcaklığında artışa ve karaciğerden akut faz proteinlerinin salınmasını indüklemek gibi sistemik olarak da etkinliği bulunmaktadır (176).

Çalışmamızda, diş jellerinin içeriklerine göre HGF-1 hücrelerinden salınan IL-6 seviyeleri üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde, sadece lidokain grubunun IL-6 seviyelerini, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak düşürdüğü bulunmuştur. Taniguchi ve ark. (259) 'nın yaptıkları çalışmada, endotoksin enjekte edilmiş tavşanlarda uygulanan lidokain tedavisinin IL-6 serum konsanstrasyonlarda düşüşe yol açtığı bildirilmiştir. Yapılan diğer in-vivo çalışmalarda da, intravenöz lidokain uygulamasının IL-6 seviyelerinde düşüşe sebep olduğu tespit edilmiştir (260,261). Ancak, gingival fibroblastlarda lidokain içerikli jellerin IL-6 seviyelerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmadığından, çalışmamızın sonuçları karşılaştırılamamıştır.

Çalışmamızda preparatlara göre IL-6 seviyeleri değerlendirildiğinde HA3 dışındaki tüm diş jellerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada, farklı molekül ağırlıklarındaki hyaluronik asitin inflame HGF-1 hücrelerinden salınan artmış IL-6 seviyesini düşürebildiği ancak, hyaluronik asitin bazı molekül ağırlıklarında ise kontrol grubu ile benzer sonuçlar sergilediği bildirilmiştir (250). Hyaluronik asit içerikli üç farklı diş jelinin kullanıldığı çalışmamızda, preparatların aynı içeriğe sahipken değişken sonuçlar sergilemesi molekül ağırlıklarına veya içeriklerindeki yan etken maddelere bağlanabilir. Üretici firmalar tarafından sunulan prospektüs bilgisinde yeterli bilgi bulunmaması mevcut sonuçlarla kesin bir yargıya varılmasını önlemektedir. Bu konuda yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

İnflame dokulara immün sistem hücrelerinin göçü ve aktivasyonundan sorumlu olan IL-8, oral mukozada gingival fibroblastlardan, keratinositlerden ve diş eti sulkusunda bulunan fagositlerden salınabilmektedir (180–184). IL-8 seviyelerinin yetişkin hastalarda değerlendirildiği bir çalışmada, sürmekte olan 3.molar diş çekim operasyonu öncesi tükürük IL-8 seviyelerinin, tedavi sonrasına göre yüksek olduğu tespit edilmiştir (262). Bebeklerde ise, diş sürme döneminde sürmekte olan dişlerin diş eti sulkusunda IL-8 seviyelerinde artışın bulunduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, diş eti sulkusundaki IL-8 seviyelerinde artış görülen bebekler ile gastrointestinal rahatsızlıklar arasında da anlamlı bir ilişki bulunmuştur (106). Çalışmamızda ise, tercih edilen tüm diş jelleri kontrol

grubuna kıyasla HGF-1 hücrelerinin IL-8 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe sebep olmuş, jeller içeriklerine göre kıyaslandığında birbirlerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir. Bununla birlikte, kontrol grubuna kıyasla sayısal olarak en fazla düşüş, hyaluronik asit içerikli bir diş jeli olan HA2 grubunda görülmüştür. Çalışmamızla benzer şekilde Chen ve ark. (250), bakteriyel kaynaklı gingival inflamasyonda hyaluronik asitin etkinliğini incelemiş ve farklı moleküler ağırlıklardaki hyaluronik asitin HGF-1 hücrelerinden salınan IL-8 seviyelerinde azalmaya neden olduğunu bildirmiştir. Hyaluronik asitin, IL-8 seviyelerine etkisi, aralarındaki Van der Waals kuvveti ile açıklanabilir. Hyaluronik asitin mukozadaki IL-8'le yaptığı zayıf bağ sayesinde, mukoza yüzeyini kaplayarak istenmeyen bir inflamatuar reaksiyonu engelleyebildiği bildirilmiştir (263).

HGF-1 hücrelerinden salınan IL-8 seviyelerindeki sayısal olarak en fazla düşüşe sebep olan HA2'nin içeriğinde diğer hyaluronik asit içerikli diş jellerinden farklı olarak aloe vera bulunmaktadır. Aloe veranın in-vitro olarak kolorektal mukoza üzerinde etkisinin incelendiği bir çalışmada, IL-8 seviyelerinde düşüş sağlayarak anti-inflamatuar bir etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (264). İncelenen mevcut literatürde, aloe veranın oral mukoza IL-8 seviyeleri üzerindeki etkinliğini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, aloe veranın bir komponenti olan aloinin, anti-inflamatuar etkinlik gösterdiği ve yetişkin hastaların tükürük örneklerindeki epitel hücrelerinin IL-8 üretimini inhibe ettiği tespit edilmiştir (265). Bu çalışmanın sonucu, aloe veranın oral mukozada IL-8 seviyeleri üzerinde etkinlik göstermiş olabileceğini desteklemektedir. Ancak, içeriğinde aloe vera bulunan HA2 diş jeli ve IL-8 ile ilgili daha kesin sonuçlara varabilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda kullanılan lidokain içerikli diş jelleri (LH1, LH2) de HGF-1 hücreleri IL-8 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüşe sebep olmuştur. Mevcut literatür incelendiğinde, lidokainin IL-8 seviyelerindeki etkilerinin değerlendirildiği çalışmalar, ağırlıklı olarak gastrointestinal hücreler üzerinde yapılmıştır. Bu çalışmalarda, lidokainin bağırsak epitel hücrelerinden ve kolon epitel hücrelerinden IL-8 salınımını inhibe ettiği bildirilmiştir (266–268). Özellikle ülseratif kolit bulunan hastalarda yükselmiş olan IL-8 seviyelerinin düşürülmesinde ve iyileşmenin hızlanmasında

lidokainin etkili olabileceği bildirilmiştir. Bir başka çalışmada, abdominal cerrahi sonrası değişiklik gösteren bağırsak fonksiyonlarının iyileşmesinde ve serum IL-8 seviyelerinin azaltılmasında intravenöz olarak lidokain uygulanması etkili bulunmuştur (269). Anestezik bir ajan olan lidokainin, ağrı duyusunda sempatik sinir sistemini indükleyen ilk inflamatuar mediatör olarak kabul edilen IL-8'in azaltılmasıyla da ağrı duyusunda etkili olabileceği düşünülmektedir (270). Ancak, erişilebilir mevcut literatürde lidokain içerikli diş jellerinin oral mukozada IL-8 seviyeleri üzerindeki etkisini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmaması sebebiyle bulgularımız karşılaştırılamamıştır.

Çalışmamızda kullanılan bir diğer diş jeli olan kolin salisilat içerikli diş jeli de IL-8 seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe sebep olmuştur. IL-8 gibi pro-inflamatuar sitokin artışlarının görüldüğü oküler hastalıkların tedavisinde, kolin salisilat içerikli göz damlalarının kullanıldığı bildirilmiştir (271–273). Kolin salisilat içerikli diş jellerinin farklı oral lezyonlarda veya diş çıkarma semptomlarında başarılı sonuçlar sergilediğini, inflamasyonu ve ağrıyı azalttığını bildirilmesine karşın, ulaşılabilir mevcut literatürde kolin salisilatın HGF-1 hücrelerinin IL-8 seviyeleri üzerindeki etkisini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır (131).

İnflamasyonun başlıca pro-inflamatuar sitokinlerinden biri olan TNF-α; inflamasyonun enfeksiyon varlığında lokal inflamatuar yanıtın indükleyicisidir (163,200). Lokal ve sistemik inflamatuar cevapların etkinliği, süresi ve gücünü belirleyebilen TNF-α'nın serumda yüksek seviyelerde bulunması, doku hasarı, katabolik hormon salınımı ve ateş gibi durumlara sebep olmaktadır (201). Yapılan farklı çalışmalarda, TNF-α'nın inflamasyonda merkezi bir faktör olduğu, periodontitiste ve ortodontik diş hareketi sırasında gingival sulkustaki seviyelerinin arttığı bildirilmiştir (167,171,209,210). Shapira ve ark. (106) 'nın yaptıkları çalışmada ise, sürmekte olan dişlerin diş eti oluğu sıvısında TNF-α seviyelerinin, diş sürmesi sonrasındaki döneme göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda, bu dönemde uyku bozuklukları ve ateş görülen bebeklerin diş eti oluğu sıvısında TNF-α seviyelerinin yükseldiği bildirilmiştir (106). Çalışmamızda diş jelleri içeriklerine göre değerlendirildiğinde, tüm gruplarda TNF-α seviyelerindeki düşüşün kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Erişilebilir literatürde, çalışmamızda kullanılan diş jellerinin hiçbirisinin TNF-α üzerine etkinliğini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Hyaluronik asitin TNF-α seviyeleri üzerindeki etkinliği değerlendiren farklı in-vitro ve klinik çalışmalarda ise, sonuçların değişkenlik gösterdiği görülmüştür (252,274–280). Inuyama ve ark. (280) 'nın yaptıkları çalışmada, odontoblastik hücre kültürüne (KN-3) hyaluronik asit uygulaması sonrasında TNF-α seviyelerinin istatistiksel olarak düştüğü tespit edilmiştir. Benzer şekilde Lee ve ark. (278) hyaluronik asitin lipopolisakkaritle uyarılmış makrofajların TNF-α seviyelerini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşürdüğü bildirilmiştir. Ancak bu durumun aksine bir başka çalışmada, peri-implantitis hastalarında hyaluronik asit uygulamalarının diş eti oluğu sıvısının TNF-α seviyeleri üzerinde bir etkinliğinin bulunmadığı bildirilmiştir (252). Çalışmamızda da preparatlara göre değerlendirme yapıldığında; HA1 grubu kontrol grubu ile benzer etki gösterirken, diğer iki hyaluronik asit içerikli jel TNF-α seviyelerinde daha fazla düşüşe neden olmuştur. Preparatlar arasındaki farklılıkların molekül ağırlıkları veya yardımcı içeriklerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

İnflamatuar reaksiyonların bir diğer düzenleyicisi olan IL-10, proliferatif ve anti-inflamatuar bir sitokindir (191,194,195). Aynı zamanda IL-10, hem kemik rezorpsiyonuna neden olan moleküllerde inhibisyon yaparak hem de kemik formasyonunu düzenleyerek kemik hacminin korunmasında rol oynamaktadır (191). Alveolar kemik rezorpsiyonu periodontitis ve diş sürmesi sırasında görülmektedir ancak, diş sürme dönemindeki kemik rezorpsiyonu patolojik bir durum değildir. Dişin sürme yolunun oluşumu sırasında kemik rezorpsiyonuna ihtiyaç duyulurken, sürme sonrası dönemde ise kemik rezorpsiyonu azalmaktadır. Farelerde yapılan bir çalışmalarda, mandibular 1. molar dişi çevreleyen alveolar kemikte görülen maksimum osteoklast sayısının postnatal 3.günde olduğu ve bu döneme majör patlama, 10. güne ise minör patlama dendiği bildirilmiştir (281,282). Dental folikülde bulunan IL-10'un ise diş sürmesinin 3. ve 10. günleri dışında, sürme dönemindeki aktif kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (282,283). Bu durumların dışında, inflamasyon gibi herhangi bir nedenle dental folikülde IL-10 seviyelerinin yüksek oranda artışının, diş sürmesinde gecikmelere yol açtığı bildirilmiştir (282). Çalışmamızda jeller içeriklerine göre değerlendirildiğinde, üç diş jeli grubunun da,

IL-10 seviyelerini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir.

Çalışmamızda, HGF-1 hücrelerine uygulanan HA3 dışındaki topikal diş jelleri, IL-10 seviyelerinde istatistiksel olarak düşüşe yol açmıştır. Erişilebilir mevcut literatürde hyaluronik asitin, anti-inflamatuar sitokinler üzerindeki etkinliğini değerlendiren çalışmalar sınırlıdır (250,274,278). Çalışmamızın bulgularıyla uyumlu olan bir çalışmada, HGF-1'in bakteriyel kaynaklı inflamasyonunda, hyaluronik asitin IL-10 üretimini inhibe ettiği bildirilmiştir (250). Farklı molekül ağırlıklarındaki hyaluronik asitin hem lipopolisakkarit varlığında hem de lipopolisakkarit olmadan insan makrofaj hücrelerinde IL-10 seviyelerinde düşüşe yol açtığı tespit edilmiştir (278). Çalışmalar arasındaki farklılıklarda kullanılan preparatın moleküler ağırlığının ve kullanılan hücre tipinin etkili olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızdaki diş jelleri genel olarak değerlendirildiğinde, HGF-1 hücrelerinden salınan inflamatuar süreci yöneten sitokinleri üç farklı ana içerik maddesine sahip diş jellerinin hepsinin değişen oranlarla baskıladığı görülmüştür. Ancak, etkinliklerinin yanı sıra, diş jellerinin her yaş grubunda kullanılması özellikle bebeklerde sıklıkla kullanıldığı düşünüldüğünde, sağlık çalışanları tarafından önerilirken sitotoksik etkileri de göz önünde bulundurulmalıdır. Yapılan çalışmalarda, %67' si altı yaşından küçük 8576 çocukta topikal diş jellerine bağlı olarak yan etkilerin geliştiği bildirilmiştir (284).

İçeriklerine göre diş jelleri genel olarak değerlendirildiğinde; sadece lidokain grubunun tüm sitokin seviyelerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşürdüğü görülmüştür. Lidokain gibi farmakolojik içeriğe sahip topikal diş jellerinin etkinliğini destekleyen yüksek kaliteli klinik verilerin eksikliği ve küçük çocuklarda ve bebeklerde kullanıldığında topikal lidokain jele karşı ciddi yan etkileri belgeleyen çok sayıda küresel vaka raporu ışığında, bu ilacın diş çıkarmada kullanımının yararı ve güvenliği sorgulanmaktadır (285–293). Lidokainin ağız mukozasında anestezik etki oluşturması sebebiyle, bebeklerde aspirasyon riski de oluşmaktadır. Lidokainin solunum yolundan emilimi, lidokainin karaciğerde metabolize olmadan merkezi sinir sistemine karışmasına yol açmaktadır (294). Bu sebeplerle, lidokain içerikli ürünlerin bilinçsiz kullanımına bağlı olarak, solunum sıkıntıları, nöbet, ölüm gibi ciddi yan etkilere varan farklı vaka raporları

bulunmaktadır (285–289,295). Ağızdan uygulanan lidokain ürünleri, modern kanıta dayalı tıp uygulamalarından önce, genellikle güvenli kabul edildikleri bir dönemde piyasaya sürülmüştür ancak FDA son güncellemesine göre, lidokain içerikli diş jellerinin bebeklerin diş çıkarma döneminde kullanımı onaylanmamaktadır (294,296). Bunun yanısıra, çalışmamızda kullanılan LH1'in içerisinde lidokaine ek olarak HGF-1 gibi farklı hücrelerde düşük konsantrasyon ve kısa süreli uygulamalarda bile sitotoksik etki gösterdiği bildirilen setilpridinyum hidroklorür de bulunmaktadır (297,298). Olası yan etkileri değerlendirildiğinde, lidokain ve setilpridinyum klorür içerikli ürünlerin doktor kontrolü olmadan kullanımı önerilmemektedir.

Çalışmamızda değerlendirilen farmakolojik etkinliğe sahip bir diğer diş jelinde ise kolin salisilat bulunmaktadır. Birleşik Krallık'ta, kronik toksisite endişesi nedeniyle salisilat içerikli diş çıkarma jellerinin 16 yaşın altındaki çocuklar için kontrendikasyonu bulunmaktadır (299). Kolin salisilat içerikli ürünlerin kullanımına bağlı mide ve duodenumunda peptik ülserli alanların geliştiğini bildiren vakalar ve bu ürünlerin Reye Sendromu'na sebep olabileceğini öngören çalışmalar değerlendirildiğinde kolin salisilat içerikli jellerin bilinçli kullanımının önemi artmaktadır (134,300,301).

Çalışmamızda, hem oral patolojilerde hem de diş sürme sürecinde başarılı sonuçları bildirilen ve ağız mukozasında bulunan doğal bir polisakkarit olan hyaluronik asit içeren diş jelleri değerlendirilmiştir (5,135,136,138,254,302–305). Diğer farmakolojik içerikli jellerin olası yan etkileri göz önüne alındığında, semptoma yönelik tedavilerde inflamasyon sürecini yöneten sitokinlerin baskılanmasında hyaluronik asit içerikli jellerin güvenli ve tolere edilebilir bir profile sahip olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamız, topikal diş jellerinin gingival fibroblastların sitokin seviyeleri üzerindeki etkinliğini in-vitro olarak değerlendiren ilk çalışmadır. Çalışmamızın bulguları yapılacak ileri düzey çalışmalar için bir referans noktası olabilme özelliğine sahiptir. Bununla birlikte, çalışmamızın bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Çalışmamızda piyasada bulunan topikal diş jeli preparatlarının HGF-1 hücrelerinin sitokin seviyeleri üzerindeki etkinliği in-vitro deneysel modeller üzerinde değerlendirilmiştir. Topikal diş jellerinin özellikle bebeklerde ve çocuklarda sık kullanılması sebebiyle, çalışmaların yapılmasında etik değerler açısından daha hassas ve titiz olunması gerekmektedir ve bu nedenle in-vitro

çalışmalar önem kazanmaktadır. Çocukları kapsayan klinik araştırmaların kısıtlılığı ve araştırma kapasiteleri gibi bir çok husus araştırmacıları in-vitro çalışmalara yönlendirmektedir. İn-vitro çalışmaların, standardizasyonun sağlanabilmesi, kolay ve düşük maliyetli olması gibi avantajlarının bulunmasının yanı sıra, in-vitro çalışmalarda, hayvan deneyleri ve klinik testlerde görülen doku cevabı gözlenememektedir ve bu çalışmalar dokudan ziyade hücre üzerindeki etkinliği değerlendiren çalışmalardır. Çocuklar için güvenli ve etkili tedavi sağlamak için her açıdan yapılan birçok girişime rağmen, çocukluk çağında kullanılan ilaçların güvenliği ve etkinliği konusunda bilgi eksikliği bulunmaktadır (7–10). Topikal diş jellerinin, çocukların ihtiyaçlarına göre uygun doz ve formülasyonlarda, yeterli sürelerde kullanılması için birçok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızın kısıtlılıklarından bir diğeri de tek bir hücre tipinde çalışılmasıdır. Topikal diş jellerinin sadece en fazla temas ettiği HGF-1 hücrelerinin sitokin seviyeleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir ancak topikal diş jelleri ağız içerisinde birçok dokuda kullanılmaktadır. Bununla birlikte çalışmamızda diş jelleri sağlıklı HGF-1 hücrelerine uygulanmıştır, inflame dokular üzerine etkinliklerinin değerlendirilebilmesi için ileride yapılacak in-vitro ve in-vivo çalışmalar gerekmektedir. Topikal diş jellerinin uygulandığı ortamdan tükürükle uzaklaştırılması veya doku üzerinde yeterli sürede kalamaması, in-vitro olarak tespit edilememektedir. Aynı zamanda, tükürüğün inflamatuar süreci yöneten sitokinler üzerinde de etkisinin olduğu düşünüldüğünde, klinik çalışmaların gerekliliği önem kazanmaktadır.

İnsan gingival fibroblastlara uygulanan topikal diş jellerinin sitokinler üzerindeki etkinliği değerlendirilirken, diş jellerinin farklı viskozitelerde ve formda olmaları sebebiyle standardizasyonunu sağlamak için, diş jellerinin uygulandığı tüm gruplarda hücrelerin %50'sinde sağkalım gösteren LD50 dozu hesaplanmıştır. LD50 dozu hesaplanan topikal diş jeli preparatlarının içerikleri üretici firmalar tarafından bildirilmiştir ve tam olarak formülasyonları ve kullanım oranları bilinmemektedir. Bu nedenle sonuçlarımız eldeki veriler ışığında değerlendirilebilmiştir. Daha kesin sonuçlar için diş jellerinin hem etken maddelerin hem de içerikteki diğer maddelerin kimyasal

analizlerinin, doz hesaplamalarının yapıldığı ve moleküler ağırlıklarının bilindiği ileri düzey çalışmalara da ihtiyaç duyulmaktadır.

Sitokin tayininde tercih edilen ELISA yönteminin performansı büyük ölçüde antikor kalitesine, kit üreticisine, uygulamayı yapan kişinin becerilerine ve deneyimine bağlıdır. Ayrıca ELISA, belirli bir grupta yalnızca bir sitokinin ölçülmesine izin verir. Bu nedenle, her biri farklı koşullar altında yapılan farklı ELISA kitleri kullanılarak ölçülen sitokin seviyelerinin karşılaştırılmasında da zorluklar oluşmaktadır. Bununla birlikte, farklı zamanlarda aynı sitokin değerlerinin ölçümünde bile sayısal farklılıklar oluşabilmektedir. Çalışmamızın tüm kısıtlılıklarına rağmen, diş jellerinin sitokinler üzerindeki etkisine dair yapılmış ilk çalışma olması, bu konuda yapılacak ileri çalışmalara bir başlangıç basamağı olacak ve bu jellerin semptoma yönelik doğru endikasyonda kullanılmasında klinisyenlere ışık tutacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda, topikal diş jelleri uygulanan insan gingival fibroblast hücrelerinin IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α ve IL-10 sitokin seviyelerinin in-vitro olarak incelenmesi amaçlanmış ve çalışmamızda kullanılan lidokain, hyaluronik asit ve kolin salisilat içerikli diş jellerinin, genel olarak değerlendirildiğinde inflamatuar süreci yöneten sitokinleri değişen oranlarla baskıladığı görülmüştür.

2. Çalışmamıza dahil edilen topikal diş jellerinin HGF-1 hücrelerinin IL-1β seviyeleri üzerine etkileri değerlendirildiğinde; üç farklı içeriğe sahip diş jellerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde IL-1β seviyelerini düşürdüğü bulunmuştur ($p<0,05$). İçerikler kendi aralarında karşılaştırıldığında; hyaluronik asitin lidokaine göre IL-1β seviyelerini daha fazla düşürdüğü tespit edilmiştir ($p<0,05$). Diş jelleri 6 ayrı preparat olarak değerlendirildiğinde ise, IL-1β seviyeleri LH1 (Calgel®) grubunda kontrol grubuna göre benzer bulunurken ($p>0,05$); diğer topikal diş jelleri gruplarında kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

3. Çalışmamıza dahil edilen topikal diş jellerinin HGF-1 hücrelerinin IL-6 seviyeleri üzerine etkileri değerlendirildiğinde; içerik olarak sadece lidokain grubunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş sergilediği görülmüştür ($p<0,05$). Diş jelleri preparat olarak ayrı değerlendirildiğinde ise, IL-6 seviyeleri HA3 (Gengigel®) grubunda kontrol grubuna göre benzer bulunurken ($p>0,05$); diğer topikal diş jelleri gruplarında kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

4. Çalışmamıza dahil edilen topikal diş jellerinin HGF-1 hücrelerinin IL-8 seviyeleri üzerine etkileri değerlendirildiğinde; tüm diş jelleri hem içerik olarak hem de ayrı ayrı preparat olarak IL-8 seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüş sergilemiştir ($p<0,05$).

5. Çalışmamıza dahil edilen topikal diş jellerinin HGF-1 hücrelerinin TNF-α seviyeleri üzerine etkileri değerlendirildiğinde; üç farklı içeriğe sahip diş jellerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde TNF-α seviyelerini düşürdüğü bulunmuştur

(p<0,05). Diş jelleri preparat olarak ayrı değerlendirildiğinde ise, TNF-α seviyeleri HA1 (Aftamed®) grubunda kontrol grubuna göre benzer bulunurken (p>0,05); diğer topikal diş jelleri gruplarında kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (p<0,05).

6. Çalışmamıza dahil edilen topikal diş jellerinin HGF-1 hücrelerinin IL-10 seviyeleri üzerine etkileri değerlendirildiğinde; üç farklı içeriğe sahip diş jellerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde IL-10 seviyelerini düşürdüğü bulunmuştur (p<0,05). Diş jelleri preparat olarak ayrı değerlendirildiğinde ise, IL-10 seviyeleri HA3 (Gengigel®) grubunda kontrol grubuna göre benzer bulunurken (p>0,05); diğer topikal diş jelleri gruplarında kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (p<0,05).

7. Çalışmamızda kullanılan diş jelleri içerik olarak genel değerlendirildiğinde; sadece lidokain grubunun tüm sitokin seviyelerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşürdüğü görülmüştür (p<0,05). Ancak, özellikle LH1 (Calgel®) preparatının sitotoksik etkileri göz önüne alındığında, küçük yaş grubu hastalarda endikasyon dahilinde doktor kontrolünde kullanımını önermekteyiz.

8. Çalışmamızda kullanılan diş jelleri altı ayrı preparat olarak değerlendirildiğinde; LH2 (Dentinox®), HA2 (Aftadur®) ve KS (Dencol®) jellerinin tüm sitokin seviyelerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşürdüğü görülmüştür (p<0,05). Çalışmamızdaki farklı içeriklere sahip preparatların aynı etki göstermeleri veya aynı içeriklere sahip preparatların farklı etki göstermeleri ürünlerin içerisindeki yardımcı etken maddelere veya değişken moleküler ağırlıklarına bağlanabilir. Ancak, bulgularımızın karşılaştırılabilmesi ve kesin yargılara varılabilmesi için daha fazla in-vitro ve in-vivo çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

9. Tüm verilerin ışığında, çalışmamızda kullanılan topikal diş jellerinin tam olarak kimyasal formülasyonlarının bilinmemesi ve tek tip, sağlıklı hücrelerde in-vitro olarak değerlendirme yapılması gibi çalışmamızın bir takım limitasyonları bulunmaktadır.

10. Çalışmamızın tüm kısıtlılıklarına rağmen, diş jellerinin sitokinler üzerindeki etkisine dair yapılmış ilk çalışma olması, bu konuda yapılacak ileri çalışmalara bir başlangıç basamağı olacak ve bu jellerin semptoma yönelik doğru endikasyonda kullanılmasında klinisyenlere ışık tutacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Casale M, Moffa A, Vella P, Sabatino L, Capuano F, Salvinelli B, et al. Hyaluronic acid: Perspectives in dentistry. A systematic review. Int J Immunopathol Pharmacol 2016; 29(4): 572–82.

2. Lefnaoui S, Moulai-Mostefa N. Investigation and optimization of formulation factors of a hydrogel network based on kappa carrageenan–pregelatinized starch blend using an experimental design. Colloids Surf A Physicochem Eng Asp 2014; 458(1): 117–25.

3. Kumar KPS, Deb L. Recent trends in scope and opportunities of control release oral drug delivery systems. Crit Rev Pharm Sci 2012; 1(1): 20-33.

4. Calcagno E, Barattiarattini DF, Servetto R. Therapeutic approach to pediatric oral disorders. Minerva Pediatr 2016; 70(2): 175–81.

5. Ni J, Shu R, Li C. Efficacy evaluation of hyaluronic acid gel for the restoration of gingival ınterdental papilla defects. J Maxillofac Surg 2019; 77(12): 2467–74.

6. Hawkins N, Golding J. A survey of the administration of drugs to young infants. Br J Clin Pharmacol 1995; 40(1): 79–82.

7. World Health Organization, Promoting Safety of Medicines for Children, WHO Press, Switzerland, 2007: 9-12.

8. Choonara I. Regulation of drugs for children in Europe. BMJ 2007; 335(7632): 1221–2.

9. Hoppu K. Paediatric clinical pharmacology - At the beginning of a new era. Eur J Clin Pharmacol 2008; 64(2): 201–5.

10. Boots I, Sukhai RN, Klein RH, Holl RA, Wit JM, Cohen AF, et al. Stimulation programs for pediatric drug research - Do children really benefit? Eur J Pediatr 2007; 166(8): 849–55.

11. Ebersole JL, Dawson DR, Morford LA, Peyyala R, Miller CS, Gonzaléz OA. Periodontal disease immunology: 'double indemnity' in protecting the host. Periodontol 2000 2013; 62(1): 163–202.

12. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. Crit rev oral biol 2016;9(3):248–66.

13. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. J Periodontol 2003;74(3):391–401.

14. Kusumoto Y, Hirano H, Saitoh K, Yamada S, Takedachi M, Nozaki T, et al. Human gingival epithelial cells produce chemotactic factors interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 after stimulation with porphyromonas gingivalis via toll-like receptor 2. J Periodontol 2004; 75(3): 370–9.

15. Belibasakis GN, Johansson A, Wang Y, Chen C, Lagergård T, Kalfas S, et al. Cytokine responses of human gingival fibroblasts to Actinobacillus actinomycetemcomitans cytolethal distending toxin. Cytokine 2005; 30(2): 56–63.

16. Wake M, Hesketh K, Lucas J. Teething and tooth eruption in infants: A cohort study. Pediatrics 2000; 106(6): 1374–9.

17. Canto FMT, Costa Neto ODC, Loureiro JM, Marañón-Vásquez GA, Ferreira DMT, et al. Efficacy of treatments used to relieve signs and symptoms associated with teething: a systematic review. Braz Oral Res 2022 (36).

18. Carlson H. Studies on the rate and amount of eruption of certain human teeth. Am J Orthod Oral Surg 1944; 42: 78–91.

19. Wang XP. Tooth eruption without roots. J Dent Res 2013; 92(3): 212–4.

20. Björk A. The use of metallic implants in the study of facial growth in children: method and application. Am J Phys Anthropol 1968; 29(2): 243–54.

21. Björk A, Skieller V. Growth of the maxilla in three dimensions as revealed radiographically by the implant method. Br J Orthod 1977; 4(2): 53–64.

22. Proffit WR, Frazier-Bowers SA. Mechanism and control of tooth eruption: overview and clinical implications. Orthod Craniofac Res 2009;12(2):59–66.

23. Marks SC, And JR, Schroeder HE. Tooth eruption: theories and facts. Anat Rec 1996; 245(374): 393.

24. Cahill DR. Eruption pathway formation in the presence of experimental tooth impaction in puppies. Anat Rec 1969; 164(1): 67–77.

25. Toto PD, Sicher H. Eruption of teeth through the oral mucosa. Periodontics 1966; 4(1): 29–32.

26. Pierce AM, Lindskog S, Hammarström L. IgE in postsecretory ameloblasts suggesting a hypersensitivity reaction at tooth eruption. ASDC J Dent Child 1986; 53(1): 23–6.

27. Proffit WR, Prewitt JR, Baik HS, Lee CF. Video microscope observations of human premolar eruption. J Dent Res 2016; 70(1): 15–8.

28. Katona TR, Qian H. A mechanism of noncontinuous supraosseous tooth eruption. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2001; 120(3): 263–71.

29. Nirmala SVSG, Sivakumar N, Usha K. Dentin dysplasia type I with pyogenic granuloma in a 12-year-old girl. J Indian Soc Pedod Prev Dent 2009; 27(2): 131–4.

30. Kalk WWI, Batenburg RHK, Vissink A. Dentin dysplasia type I: five cases within one family. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998; 86(2): 175–8.

31. Brin I, Zilberman Y, Galili D, Fuks A. Eruption of rootless teeth in congenital renal disease. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1985; 60(1): 61–4.

32. Carl W, Wood R. Effects of radiation on the developing dentition and supporting bone. J Am Dent Assoc 1980; 101(4): 646–8.

33. Cahill DR, Marks SC. Tooth eruption: evidence for the central role of the dental follicle. J Oral Pathol Med 1980; 9(4): 189–200.

34. Marks SC, Cahill DR. Experimental study in the dog of the non-active role of the tooth in the eruptive process. Arch Oral Biol 1984; 29(4): 311–22.

35. Berkovitz BKB, Thomas NR. Unimpeded eruption in the root-resected lower incisor of the rat with a preliminary note on root transection. Arch Oral Biol 1969; 14(7): 771-8.

36. Moxham BJ, Berkovitz BKB. The effects of root transection on the unimpeded eruption rate of the rabbit mandibular incisor. Arch Oral Biol 1974; 19(10): 903-909.

37. Cahill DR, Marks SC. Chronology and histology of exfoliation and eruption of mandibular premolars in dogs. J Morphol 1982; 171(2): 213–8.

38. Marks SC. Osteoclast biology: lessons from mammalian mutations. Am J Med Genet 1989; 34(1): 43–54.

39. Shields ED, Bixler D, El-Kafrawy AM. A proposed classification for heritable human dentine defects with a description of a new entity. Arch Oral Biol 1973; 18(4): 543-7.

40. Witkop CJ. Hereditary defects of dentin. Dent Clin North Am 1975; 19(1): 25–45.

41. Gowgiel JM. Eruption of ırradiation-produced rootless teeth in monkeys. J Dent Res 1961; 40(3): 538–47.

42. Keith A. An ınquıry ınto the nature of the skeletal changes ın acromegaly. The Lancet. 1911; 177(4572): 993–1002.

43. Baume LJ, Becks H, Evans HM. Hormonal control of tooth eruption:I. The effect of thyroidectomy on the upper rat incisor and the response to growth hormone, thyroxin, or the combination of both. J Dent Res 1954; 33(1): 80–90.

44. Baume LJ, Becks H, Evans HM. Hormonal control of tooth eruption: III. The response of the incisors of hypophysectomized rats to growth hormone, thyroxin, or the combination of both. J Dent Res 1954; 33(1): 104–14.

45. Cohen MM, Wagner R. Dental development in pituitary dwarfism. J Dent Res 1948; 27(4): 445–58.

46. Garn SM, Lewis AB, Blizzard RM. Endocrine factors in dental development. J Dent Res 1965; 44(1): 243–58.

47. Ito RK, Vig KWL, Garn SM, Hopwood NJ, Loos PJ, Spalding PM, et al. The influence of growth hormone (rhGH) therapy on tooth formation in idiopathic short statured children AJODO 1993; 103(4): 358–64.

48. Wise GE, Frazier-Bowers S, D'Souza RN. Cellular, molecular, and genetic determinants of tooth eruption. Crit rev oral biol med 2002; 13(4): 323–34.

49. Craddock HL, Youngson CC. Eruptive tooth movement - the current state of knowledge. Br Dent J 2004; 197(7): 385–91.

50. van Hassel HJ, McMinn RG. Pressure differential favouring tooth eruption in the dog. Arch Oral Biol 1972; 17(1): 183–90.

51. Moxham BJ. The effects of some vaso-active drugs on the eruption of the rabbit mandibular incisor. Arch Oral Biol 1979; 24(9): 681–8.

52. Antonio Nanci. Ten Cate's Oral Histology Development, Structure, and Function(9th Edition), Elsevier, Canada, 2018:218.

53. Bhaskar S. Orban's oral histology and embriology. 2012; 482–482.

54. Grier IV RL, Wise GE. Inhibition of tooth eruption in the rat by a bisphosphonate. J Dent Res 2016; 77(1): 8–15.

55. Beertsen W, Holmbeck K, Niehof A, Bianco P, Chrysovergis K, Birkedal-Hansen H, et al. On the role of MT1-MMP, a matrix metalloproteinase essential to collagen remodeling, in murine molar eruption and root growth. Eur J Oral Sci 2002; 110(6): 445–51.

56. Bartlett JD, Zhou Z, Skobe Z, Dobeck JM, Tryggvason K. Delayed tooth eruption in membrane type-1 matrix metalloproteinase deficient mice. Connect Tissue Res 2009; 44(suppl.1): 300–4.

57. Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating ıncisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. JBC 1962; 237(6): 1555-62.

58. Tam JP. Physiological effects of transforming growth factor in the newborn mouse. New Series 1985; 229(4714): 673–5.

59. Todaro GJ, Fryling C, de Larco JE. Transforming growth factors produced by certain human tumor cells: Polypeptides that interact with epidermal growth factor receptors (sarcoma growth factor/cell growth/carcinomas/melanomas). Cell Biology 1980; 77(9): 5258–62.

60. Wong ST, Winchell LF, McCune BK, Earp HS, Teixido J, Massague J, et al. The TGF-α precursor expressed on the cell surface binds to the EGF receptor on adjacent cells, leading to signal transduction. Cell 1989; 56(3): 495–506.

61. Brachmann R, Lindquist PB, Nagashima M, Kohr W, Lipari T, Napier M, et al. Transmembrane TGF-α precursors activate EGF/TGF-α receptors. Cell 1989; 56(4): 691–700.

62. Mann GB, Fowler KJ, Gabriel A, Nice EC, Williams RL, Dunn AR. Mice with a null mutation of the TGFα gene have abnormal skin architecture, wavy hair, and curly whiskers and often develop corneal inflammation. Cell 1993; 73(2): 249–61.

63. Kodama H, Yamasaki A, Nose M, Niida S, Ohgame Y, Abe M, et al. Congenital osteoclast deficiency in osteopetrotic (op/op) mice is cured by injections of macrophage colony-stimulating factor. JEM 1991;173(1): 269–72.

64. Wiktor-Jedrzejczak W, Urbanowska E, Aukerman SL, Pollard JW, Stanley ER, Ralph P, et al. Correction by CSF-1 of defects in the osteopetrotic op/op mouse suggests local, developmental, and humoral requirements for this growth factor. Exp Hematol 1991; 19(10): 1049–54.

65. Niida S, Abe M, Suemune S, Yoshiko Y, Maeda N, Yamasaki A. Restoration of disturbed tooth eruption in osteopetrotic (op/op) mice by injection of macrophage colony-stimulating factor. Exp Anim 1997; 46(2): 95–101.

66. Cielinski MJ, Jolie M, Wise GE, Marks SC. The contrasting effects of colony-stimulating factor-1 and epidermal growth factor on tooth eruption in the rat. Connect Tissue Res 2009; 32(1–4): 165–9.

67. Grigoriadis AE, Wang ZQ, Cecchini MG, Hofstetter W, Felix R, Fleisch HA, et al. c-Fos: A key regulator of osteoclast-macrophage lineage determination and bone remodeling. Science(1979) 1994; 266(5184): 443–8.

68. Franzoso G, Carlson L, Xing L, Poljak L, Shores EW, Brown KD, et al. Requirement for NF-B in osteoclast and B-cell development. Genes & development 1997; 11(24): 3482-3496.

69. Iotsova V, Caamaño J, Loy J, Yang Y, Lewin A, Bravo R. Osteopetrosis in mice lacking NF-kappaB1 and NF-kappaB2. Nat Med 1997; 3(11): 1285–9.

70. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. Nature 1999; 397(6717): 315–23.

71. Huang H, Wise GE. Delay of tooth eruption in null mice devoid of the type I IL-1R gene. Eur J Oral Sci 2000; 108(4): 297–302.

72. Avery J, Chiego D. Essentials of oral histology and embryology: A clinical approach. Reed Elsevier. 2007

73. Wise GE, King GJ. Mechanisms of Tooth Eruption and Orthodontic Tooth Movement. J Dent Res 2008; 87(5): 414–34.

74. Becktor KB, Nolting D, Kjær I, Hansen BF. Spatiotemporal expression of NGFR during pre-natal human tooth development. Orthod Craniofac Res 2002; 5(2): 85–9.

75. Fujiyama K, Yamashiro T, Fukunaga T, Balam TA, Zheng L, Takano-Yamamoto T. Denervation resulting in dento-alveolar ankylosis associated with decreased malassez epithelium. J Dent Res 2016; 83(8): 625–9.

76. Bille MLB, Thomsen B, Kjær I. Apoptosis in the human periodontal membrane evaluated in primary and permanent teeth. Acta Odontol Scand 2011; 69(6): 385–8.

77. Wise GE, Grier IV RL, Lumpkin SJ, Zhang Q. Effects of dexamethasone on tooth eruption in rats: Differences in incisor and molar eruption. Clinical Anatomy. 2001; 14(3): 204–9.

78. Baykan Z, Sahin F, Beyazova U, Özçakar B, Baykan A. Experience of Turkish parents about their infants' teething. Child Care Health Dev 2004; 30(4): 331–6.

79. Thesleff I. Current understanding of the process of tooth formation: transfer from the laboratory to the clinic. Aust Dent J 2014; 59(suppl.1): 48–54.

80. McIntyre GT, McIntyre GM. Teething troubles? British Dental Journal. 2002; 192(5): 251–5.

81. Guthrie L. Discussion on teething and its alleged troubles. BrMed J 1908; 2(2486): 468-77.

82. Foster SW. Disease of the oral cavity a potent factor of general disease. J Am Med Assoc 1897; 28(2): 68-69.

83. Cunha RF, Garcia LD, Carvalho Pugliesi DM, Murata SS. Systemic and local teething disturbances: prevalence in a clinic for ınfants. JDC 2004; 71(1): 24-26

84. Noor-Mohammed R, Basha S. Teething disturbances; prevalence of objective manifestations in children under age 4 months to 36 months. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2012; 17(3): e491.

85. Pari A, Ilango P, Subbareddy V, Katamreddy V, Parthasarthy H. Gingival diseases in childhood - a review. J Clin Diagn Res 2014; 8(10): ZE01–4.

86. Makino Y, Fujikawa K, Matsuki-Fukushima M, Inoue S, Nakamura M. Role of ınnate ınflammation in the regulation of tissue remodeling during tooth eruption. Dent J (Basel) 2021; 9(1): 7-16.

87. Shapira J, Aker M, Nagler A, Or R, Kapelushnik J. Teething and acute graft vs. host disease: a clinical observation. J Clin Pediatr Dent 1996; 20(2): 159–60.

88. McDonald R, Avery D, Dean J. McDonald and Avery's Dentistry for the Child and Adolescent, Elsevier, 2021:150-176.

89. Elbur AI, Yousif MA, Albarraq AA, Abdallah MA. Parental knowledge and practices on infant teething, Taif, Saudi Arabia. BMC Res Notes 2015: 23; 8(1): 1-6.

90. Kumar S, Tadakamadla J, Idris A, Busaily IAA, AlIbrahim AYI. Knowledge of teething and prevalence of teething myths in mothers of Saudi Arabia. JOCPD 2016; 40(1): 44–8.

91. Owais AI, Zawaideh F, Bataineh O. Challenging parents' myths regarding their children's teething. Int J Dent Hyg 2010; 8(1): 28–34.

92. Memarpour M, Soltanimehr E, Eskandarian T. Signs and symptoms associated with primary tooth eruption: A clinical trial of nonpharmacological remedies. BMC Oral Health 2015;15(1): 1-8.

93. Karjiker Y, Morkel J. Teething symptoms and management during infancy - A narrative review. S Afr dent j 2020;75(2): 87-93.

94. Macknin ML, Piedmonte M, Jacobs J, Skibinski C. Symptoms associated with infant teething: a prospective study. Pediatrics 2000; 105(4): 747–52.

95. Wake M, Hesketh K, Allen MA. Parent beliefs about infant teething: a survey of Australian parents. J Paediatr Child Health 1999; 35(5): 446–9.

96. Ashley MP. It's only teething... A report of the myths and modern approaches to teething. Br Dent J 2000; 191(1): 4–8.

97. Jaber L, Cohen IJ, Mor A. Fever associated with teething. Arch Dis Child 1992; 67(2): 233.

98. El-Radhi AS. Determining fever in children: the search for an ideal thermometer. Br J Nurs 2014; 23(2): 91–4.

99. Galili G, Rosenzweig K, Klein, H. Eruption of primary teeth and general pathologic conditions. ASDC J Dent Child, 1969; 36(1): 51-54.

100. Peretz B, Ram D, Hermida L, Otero MM. Systemic manifestations during eruption of primary teeth in ınfants. J Dent Child 2003; 70(2): 170-173.

101. Ramos-Jorge J, Pordeus IA, Ramos-Jorge ML, Paiva SM. Prospective longitudinal study of signs and symptoms associated with primary tooth eruption. Pediatrics 2011; 128(3): 471–6.

102. Robinson JL, Jou H, Spady DW. Accuracy of parents in measuring body temperature with a tympanic thermometer. BMC Fam Pract 2005; 6(1): 1–8.

103. Canales AE. OTC device: temporal scanner TAT-2000C. J Am Pharm Assoc 2007; 47(1): 112.

104. Silveira RC, Procianoy RS. Plasmatic levels of interleukin-1beta and interleukin-6 in newborn infants with fever. J Pediatr (Rio J) 1999; 75(1): 29–33.

105. Pradella M, Nemetz L, Bovo C, Visentin M, Clemen P, Zappalà G, et al. Quantitative cytochemistry of human leukocyte elastase compared with plasma elastase and acute phase proteins in inflammatory diseases. Clinica Chimica Acta 1995; 239(1): 91–101.

106. Shapira J, Berenstein-Ajzman G, Engelhard D, Cahan S, Kalickman I, Barak V. Cytokine levels in gingival crevicular fluid of erupting primary teeth correlated with systemic disturbances accompanying teething. Pediatr Dent 2003: 25(5): 441-448.

107. Coreil J, Price L, Barkey N. Recognition and management of teething diarrhea among Florida pediatricians. Clin Pediatr 2016; 34(11): 591–6.

108. Markman L. Teething: facts and fiction. Pediatr Rev 2009; 30(8): e59.

109. Feldens CA, Faraco Junior IM, Ottoni AB, Feldens EG, Vítolo MR. Teething symptoms in the first year of life and associated factors: A cohort study. J Clin Pediatr Dent 2010; 34(3): 201–6.

110. Wake M, Hesketh K. Teething symptoms: cross sectional survey of five groups of child health professionals. BMJ 2002; 325(7368): 814.

111. Seward MH. The effectiveness of a teething solution in infants. A clinical study. Br Dent J 1969; 127(10): 457–61.

112. Aliyu I, Adewale A, Teslim LO. Teething myths among nursing mothers in North-Western Nigeria. Med J DY Patil Univ 2015; 8(2): 144-8.

113. Leach CT, Sumaya C, Brown NA. Human herpesvirus-6: Clinical implications of a recently discovered, ubiquitous agent. J Pediatr 1992; 121(2): 173–81.

114. Pruksananonda P, Hall CB, Insel RA, McIntyre K, Pellett PE, Long CE, et al. Primary human herpesvirus 6 infection in young children. N Engl J Med 1992; 326(22): 1445–50.

115. Kiran K, Swati T, Kamala BK, Jaiswal D. Prevalence of systemic and local disturbances in infants during primary teeth eruption: a clinical study. Eur J Paediatr Dent 2011; 12(4): 249–52.

116. Meer Z, Meer A. Teething trouble and its management in children. Int J Clin Dent 2011; 3(2): 75–7.

117. Tsang Annetta KL. Teething, teething pain and teething remedies. S Afr Dent J 2010; 12(5): 48-61.

118. Butt RT, Janjua OS, Butt WT, Qureshi SM. All about Teething-myths to evidence-based treatment. FUJD 2022; 2(2): 122–32.

119. Committee O, Council R. Guideline on infant oral health care. Pediatr Dent. 2012; 34(5): e148-e152.

120. Wise GE, Marks SC, Zhao L. Effect of CSF-1 on in vivo expression of c-fos in the dental follicle during tooth eruption. Eur J Oral Sci 1998; 106(S1): 397–400.

121. Sood S, Sood M. Teething: myths and facts. JOCPD 2010; 35(1): 9–13.

122. Pierce CA, Voss B. Efficacy and safety of ıbuprofen and acetaminophen in children and adults: a meta-analysis and qualitative review. Ann Pharmacother 2010;44(3):489–506.

123. Titchen T, Cranswick N, Beggs S. Adverse drug reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs, COX-2 inhibitors and paracetamol in a paediatric hospital. Br J Clin Pharmacol 2005; 59(6): 718–23.

124. Wolf D, Otto J. Efficacy and safety of a lidocaine gel in patients from 6 months up to 8 years with acute painful sites in the oral cavity: a randomized, placebo-controlled, double-blind, comparative study. Int J Pediatr 2015:1–6.

125. Kasaj A, Heib A, Willershausen B. Effectiveness of a topical salve (Dynexan) on pain sensitivity and early wound healing following nonsurgical periodontal therapy. Eur J Med Res 2007; 12(5): 196–9.

126. Rosa AL, Sverzut CE, Xavier SP, Aurelio M, Lavrador S. Clinical effectiveness of lidocaine and benzocaine for topical anesthesia. Anesth Prog 1999; 46(3): 97-99.

127. Rai K, Hegde AM, Jacob M, Charyulu RN. Comparatıve evaluation of the efficacy of lignocaıne and benzocaine patches for various dental treatments in children. J Health Allied Sci NU 2014; 4(1): 028-034.

128. Yoon RK, Chussid S. Topical anesthesia for rubber dam clamp placement in sealant placement: comparison of lidocaine/prilocaine gel and benzocaine. Pediatr Dent 2009; 31(5): 377-381.

129. Meechan JG, Donaldson D. The intraoral use of EMLA cream in children: a clinical investigation. ASDC J Dent Child 1994; 61(4): 260–2.

130. Hopper SM, McCarthy M, Tancharoen C, Lee KJ, Davidson A, Babl FE. Topical lidocaine to improve oral intake in children with painful infectious mouth ulcers:A blinded, randomized, placebo-controlled trial. Ann Emerg Med 2014; 63(3): 292–9.

131. Dobrenić M, Vidas I. Local application of choline-salicylate gel in the treatment of diseases of the oral mucosa. Acta Stomatol Croat 1976; 10(2): 51–7. (Crotia)

132. Oman TK, Stewart MC, Burns A, Lang TF. Topical choline salicylates implicated in Reye's syndrome. BMJ 2008; 336(7657): 1376–1376.

133. Williams GD, Kirk EP, Wilson CJ, Meadows CA, Chan BS. Salicylate intoxication from teething gel in infancy. Med J Aust 2011; 194(3): 146–8.

134. Nguyen T, Cranswick N, Rosenbaum J, Gelbart B, Tosif S. Chronic use of teething gel causing salicylate toxicity. J Paediatr Child Health 2018; 54(5): 576–8.

135. Dı Pıerro F, Bertuccıolı A, Donato G, Spada C. Retrospective analysis of the effects of a hyaluronic-based gum gel to counteract signs and symptoms of teething in infants. Minerva Pediatrics 2021; 74(2): 101-106.

136. D'Ercole S, Nanussi A, Tieri M, Barattini DF, Tripodi D. Hyaluronic acid-based medical device and oral disorders:Can it be used in paediatric dentistry? J Biol Regul Homeost Agents 2015; 29(4): 999–1005.

137. Kim SK, Lee HS, Byeon KS, Lee YJ, Hong SM, Choi MR, et al. The effect of hyaluronic acid on anti-inflammatory action in mouse. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg. 2010; 36(1): 16–22. (Korean)

138. Pistorius A, Martin M, Willershausen B, Rockmann P. The clinical application of hyaluronic acid in gingivitis therapy. Quintessence Int. 2005; 36(7–8): 531–8.

139. Rosu S, Barattını DF, Murına F, Gafencu M. New medical device coating mouth gel for temporary relief of teething symptoms: a pilot randomised, open-label, controlled study. Minerva Pediatr 2018.

140. Oziegbe EO, Folayan MO, Adekoya-Sofowora A, Esan TA, Owotade FJ. Teething problems and parental beliefs in Nigeria. J Contemp Dent Pract 2009; 10(4): 75-82.

141. Un Lam C, Hsu CYS, Yee R, Koh D, Lee YS, Chong MFF, et al. Early-life factors affect risk of pain and fever in infants during teething periods. Clin Oral Investig 2016; 20(8): 1861–70.

142. El-Gilany AH, Abusaad FES. Mothers' teething beliefs and treatment practices in Mansoura, Egypt. Saudi Dent J 2017; 29(4): 144–8.

143. Ip EJ, Patel PB, Chi JJ, Shah-Manek B, Lau B. What are pharmacists recommending for infant teething treatment?. JAPhA 2018; 58(1): 79-83.e1.

144. Güner İ, Özmen D, Oya B. Sitokinlerin işlevleri ve sınıflandırılması. T Klin J Med Sci 1997; 17: 65–74.

145. Taylor JJ, Preshaw PM, Donaldson PT. Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. Periodontol 2000 2004; 35(1): 158–82.

146. Fisman EZ, Motro M, Tenenbaum A. Cardiovascular diabetology in the core of a novel interleukins classification: The bad, the good and the loof. Cardiovasc Diabetol 2003; 2(1): 1–10.

147. Noronha IL, Niemir Z, Stein H, Waldherr R. Cytokines and growth factors in renal disease. NDT 1995; 10(6): 775–86.

148. Arend WP. Physiology of cytokine pathways in rheumatoid arthritis. Arthritis Care & Research: Official Journal of the American College of Rheumatology 2001;45(1): 101-106.

149. Sandy JR. Tooth eruption and orthodontic movement. Br Dent J 1992; 172(4): 141–9.

150. Martinon F, Mayor A, Tschopp J. The Inflammasomes: guardians of the body. Annu Rev Immunol 2009; 27: 229-265.

151. Gaestel M, Kotlyarov A, Kracht M. Targeting innate immunity protein kinase signalling in inflammation. Nat Rev Drug Discov 2009; 8(6): 480–99.

152. Weber A, Wasiliew P, Kracht M. Interleukin-1(IL-1) pathway. Sci Signal 2010; 3(105): 1.

153. Liu YCG, Lerner UH, Teng YTA. Cytokine responses against periodontal infection: Protective and destructive roles. Periodontol 2000 2010; 52(1): 163–206.

154. Dinarello CA, Pomerantz BJ. Proinflammatory cytokines in heart disease. Blood Purif 2001; 19(3): 314–21.

155. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. Chest. 2000; 118(2): 503–8.

156. Schett G, Dayer JM, Manger B. Interleukin-1 function and role in rheumatic disease. Nat Rev Rheumatol 2015; 12(1): 14–24.

157. Dinarello CA. Immunological and ınflammatory functions of the ınterleukin-1 family. Annu Rev Immunol 2009; 27: 519-550.

158. Harris KM, Fasano A, Mann DL. Cutting edge: IL-1 controls the IL-23 response ınduced by gliadin, the etiologic agent in celiac disease. J Immunol 2008; 181(7): 4457–60.

159. Jovanovic DV, Di Battista JA, Martel-Pelletier J, Jolicoeur FC, He Y, Zhang M, et al. IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-beta and TNF-alpha, by human macrophages. J Immunol 1998; 160(7): 3513–21.

160. Taylor JJ. Cytokine regulation of immune responses to Porphyromonas gingivalis. Periodontol 2000 2010; 54(1): 160–94.

161. Ma T, Miyanishi K, Suen A, Epstein NJ, Tomita T, Smith RL, et al. Human interleukin-1-induced murine osteoclastogenesis is dependent on RANKL, but independent of TNF-α. Cytokine 2004; 26(3): 138–44.

162. Gillespie MT. Impact of cytokines and T lymphocytes upon osteoclast differentiation and function. Arthritis Res Ther 2007; 9(2): 1–3.

163. Warren JS. Interleukins and Tumor necrosis factor in inflammation. Crit Rev Clin Lab Sci 2008; 28(1): 37–59.

164. Feghali CA, Wright TM. Cytokines in acute and chronic inflammation. Front Biosc 1997; 2(4): 12–26.

165. Delima AJ, Oates T, Assuma R, Schwartz Z, Cochran D, Amar S, et al. Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of

tissue attachment in experimental periodontitis. J Clin Periodontol 2001; 28(3): 233–40.

166. de França Landim EV, de Carvalho MGF, de Carvalho RA, Granville-Garcia AF, de Freitas Lima R, de Brito Costa EMM. Assessment of gingival mucosa of ınfant rats during teething. J Contemp Dent Pract 2014; 14(6): 1009–13.

167. Shapira L, Soskolne WA, Sela MN, Offenbacher S, Barak V. The secretion of PGE2, IL-1 beta, IL-6, and TNF alpha by adherent mononuclear cells from early onset periodontitis patients. J Periodontol 1994; 65(2): 139–46.

168. Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1α and -1β in gingival crevicular fluid: Implications for the pathogenesis of periodontal disease. J Periodontal Res 1990; 25(3): 156–63.

169. Salvi GE, Brown CE, Fujihashi K, Kiyono H, Smith FW, Beck JD, et al. Inflammatory mediators of the terminal dentition in adult and early onset periodontitis. J Periodontal Res 1998; 33(4): 212–25.

170. Blakey GH, White RP, Offenbacher S, Phillips C, Delano EO, Maynor G. Clinical/biological outcomes of treatment for pericoronitis. J Oral Maxillofac Surg 1996; 54(10): 1150–60.

171. Yakovlev E, Kalichman I, Pisanti S, Shoshan S, Barak V. Levels of cytokines and collagen type I and type III as a function of age in guman gingivitis. J Periodontol 1996; 67(8): 788–93.

172. Kinane DF, Winstanley FP, Adonogianaki E, Moughal NA. Bioassay of interleukin 1 (IL-1) in human gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. Arch Oral Biol 1992; 37(2): 153–6.

173. Carolina Morandini AF, Renata Sipert C, Helena Gasparoto T, Luiz Greghi SA, Passanezi E, Lucia Rezende MR, et al. Differential production of macrophage inflammatory protein-1a, Stromal-derived factor-1, and IL-6 by human cultured periodontal ligament and gingival fibroblasts challenged with lipopolysaccharide prom P. gingivalis. J Periodontol 2010; 81(2): 310-317.

174. Holla LI, Fassmann A, Stejskalová A, Znojil V, Vaněk J, Vacha J. Analysis of the Interleukin-6 gene promoter polymorphisms in Czech patients with chronic periodontitis. J Periodontol 2004; 75(1): 30–6.

175. Kono Y, Beagley KW, Fujihashi K, McGhee JR, Taga T, Hirano T, et al. Cytokine regulation of localized inflammation. Induction of activated B cells and IL-6-mediated polyclonal IgG and IgA synthesis in inflamed human gingiva. J Immun 1991; 146(6): 1812–21.

176. Hirano T. Interleukin 6 in autoimmune and inflammatory diseases: a personal memoir. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci 2010; 86(7): 717–30.

177. Kishimoto T. Interleukin-6: from basic science to medicine--40 years in immunology. Annu Rev Immunol 2005; 23: 1–21.

178. Graves DT, Fine D, Teng YTA, van Dyke TE, Hajishengallis G. The use of rodent models to investigate host–bacteria interactions related to periodontal diseases. J Clin Periodontol. 2008;35(2):89–105.

179. Bozkurt FY, Berker E, Akkus S, Bulut S. relationship between ınterleukin-6 levels in gingival Ccevicular fluid and periodontal status in patients with rheumatoid arthritis and adult Periodontitis. J Periodontol 2000; 71(11): 1756–60.

180. Lam HS, Ng PC. Biochemical markers of neonatal sepsis. Pathology 2008; 40(2): 141–8.

181. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. lnterleukin-8 and related chemotactic cytokines—CXC and CC chemokines. Adv Immunol 1993; 55: 97–179.

182. Graves DT, Jiang Y. Chemokines, a family of chemotactic cytokines. Crit. Rev oral biol 2016; 6(2): 109–18.

183. Sfakianakis A, Barr CE, Kreutzer DL. Localization of the chemokine interleukin-8 and interleukin-8 receptors in human gingiva and cultured gingival keratinocytes. J Periodontal Res 2002; 37(2): 154–60.

184. Brunius G, Domeij H, Gustavsson A, Yucel-Lindberg T. Bradykinin upregulates IL-8 production in human gingival fibroblasts stimulated by interleukin-1β and tumor necrosis factor α. Regul Pept 2005; 126(3): 183–8.

185. Finoti LS, Nepomuceno R, Pigossi SC, Corbi SC, Secolin R, Scarel-Caminaga RM. Association between interleukin-8 levels and chronic periodontal disease: A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis. Medicine 2017; 96(22): e6932.

186. Ertugrul AS, Sahin H, Dikilitas A, Alpaslan N, Bozoglan A. Comparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1β and tumor necrosis factor-alpha in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis. J Periodontal Res 2013; 48(1): 44–51.

187. Baggiolini M. Chemokines and leukocyte traffic. Nature. 1998; 392 (6676): 565–8.

188. Giannopoulou C, Kamma JJ, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. J Clin Periodontol 2003; 30(2): 145–53.

189. Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in ınflammation. N Engl J Med 2006; 354(6): 610–21.

190. Cheng YSL, Jordan L, Gorugantula LM, Schneiderman E, Chen HS, Rees T. Salivary Interleukin-6 and -8 in patients with oral cancer and patients with chronic oral ınflammatory diseases. J Periodontol 2014; 85(7): 956–65.

191. O'Garra A, Barrat FJ, Castro AG, Vicari A, Hawrylowicz C. Strategies for use of IL-10 or its antagonists in human disease. Immunol Rev 2008; 223(1): 114–31.

192. Mosser DM, Zhang X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. Immunol Rev 2008; 226(1): 205–18.

193. Houri-Hoddod Y, Soskolne WA, Halabi A, Shapira L. IL-10 gene transfer attenuates P. gingivalis-induced inflammation. J Dent Res 2016; 86(6): 560–4.

194. Lee SF, Andrian E, Rowland E, Marquez IC. Immune response and alveolar bone resorption in a mouse model of Treponema denticola infection. Infect Immun 2009; 77(2): 694–8.

195. Carmody EE, Schwarz EM, Puzas JE, Rosier RN, O'Keefe RJ. Viral interleukin-10 gene inhibition of inflammation, osteoclastogenesis, and bone resorption in response to titanium particles. Arthritis Rheum 2002; 46(5): 1298–308.

196. Leigh JE, Steele C, Wormley F, Fidel PL. Salivary cytokine profiles in the immunocompetent individual with Candida-associated denture stomatitis. Oral Microbiol Immunol 2002; 17(5): 311–4.

197. Buño IJ, Clark Huff J, Weston WL, Cook DT, Brice SL. Elevated levels of Interferon Gamma, Tumor Necrosis Factor α, Interleukins 2, 4, and 5, but not Interleukin 10, are present in recurrent aphthous stomatitis. Arch Dermatol 1998; 134(7): 827–31.

198. Solomon EI, Heppner DE, Johnston EM, Ginsbach JW, Cirera J, Qayyum M, et al. Copper active sites in biology. Chem Rev 2014; 114(7): 3659–853.

199. Walmsley M, Katsikis PD, Abney E, Parry S, Williams RO, Maini RN, et al. Interleukin-10 inhibition of the progression of established collagen-induced arthritis. Arthritis Rheum 1996; 39(3): 495–503.

200. Smith RA, Baglioni C. The active form of tumor necrosis factor is a trimer. J Biol Chem 1987; 262(15): 6951–4.

201. Ruuls SR, Sedgwick JD. Unlinking tumor necrosis factor biology from the major histocompatibility complex: lessons from human genetics and animal models. Am J Hum Genet 1999; 65(2): 294.

202. Kuralay F, Çavdar Z. İnflamatuar Medyatörlere Toplu Bir Bakış. Genel Tıp Derg. 2006; 16(3): 143–52.

203. Ware CF. The TNF superfamily. Cytokine Growth Factor Rev 2003; 14 (3–4): 181–4.

204. Seymour GJ, Taylor JJ. Shouts and whispers: an introduction to immunoregulation in periodontal disease. Periodontol 2000 2004; 35(1): 9–13.

205. Graves DT, Oskoui M, Volejnikova S, Naguib G, Cai S, Desta T, et al. Tumor necrosis factor modulates fibroblast apoptosis, PMN recruitment, and osteoclast formation in response to P. gingivalis infection. J Dent Res 2016; 80(10): 1875–9.

206. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. J Pathol 2008; 214(2): 149–60.

207. Katz Y, Nadiv O, Beer Y. Interleukin-17 Enhances Tumor necrosis factor-induced synthesis of Interleukins 1, 6, and 8 in skin and synovial fibroblasts a possible role as a 'fine-tuning cytokine' in inflammation processes. Arthritis Rheum 2001; 44(9): 2176–84.

208. Zhang YH, Heulsmann A, Tondravi MM, Mukherjee A, Abu-Amer Y. Tumor necrosis factor-α (TNF) stimulates RANKL-induced osteoclastogenesis via coupling of TNF type 1 receptor and RANK signaling pathways. J Biol Chem 2001; 276(1): 563–8.

209. Yavuzyilmaz E, Yamalik N, Bulut S, Özen S, Ersoy F, Saatpi Ü. The gingival crevicular fluid Interleukin-1β and Tumour necrosis factor-α levels in patients with rapidly progressive periodontitis. Aust Dent J 1995; 40(1): 46–9.

210. Lowney JJ, Norton LA, Shafer DM, Rossomando EF. Orthodontic forces increase tumor necrosis factor α in the human gingival sulcus. AJODO 1995; 108(5): 519–24.

211. Ureles SD, Chrzan JM, Norton LA, Rossomando EF. A role for TNF in bone resorption of deciduous molars in human beings. AJODO 2000; 118(2): 196–202.

212. Whiteside TL. Cytokine measurements and interpretation of cytokine assays in human disease. J Clin Immunol 1994; 14(6): 327–39.

213. Delarche C, Chollet-Martin S. Plasma cytokines: what we are measuring. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 1999; 2(6): 475–9.

214. House RV. Theory and practice of cytokine assessment in ımmunotoxicology. Methods 1999; 19(1): 17–27.

215. Tassignon J, Burny W, Dahmani S, Zhou L, Stordeur P, Byl B, et al. Monitoring of cellular responses after vaccination against tetanus toxoid: Comparison of the measurement of IFN-γ production by ELISA, ELISPOT, flow cytometry and real-time PCR. J Immunol Methods 2005; 305(2): 188–98.

216. Foster JR. The functions of cytokines and their uses in toxicology. Int J Exp Pathol 2001; 82(3): 171.

217. Hornbeck P. Enzyme-Linked ımmunosorbent assays. Curr Protoc Immunol 1992; 1(1): 2.1.1-2.1.22.

218. Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. Peptides (NY) 2015; 72: 4–15.

219. Gan S, Gan SD, Patel KR. Enzyme immunoassay and Enzyme-Linked immunosorbent assay. J Invest Dermatol 2013; 133(9): e12.

220. Kang W, Hu Z, Ge S. Healthy and inflamed gingival fibroblasts differ in heir inflammatory response to Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide. Inflammation 2016; 39(5): 1842–52.

221. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid. Anal Biochem 1985; 150(1): 76–85.

222. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials—advantages and limitations. J Dent 1994; 22(Suppl. 2): 6–11.

223. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: A review. Dental Materials 1996; 12(3): 186–93.

224. Azar NG, Heidari M, Bahrami ZS, Shokri F. In Vitro cytotoxicity of a new epoxy resin root canal sealer. J Endod 2000; 26(8): 462–5.

225. Chang YC, Chou MY. Cytotoxicity of fluoride on human pulp cell cultures in vitro. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 2001;91(2):230–4.

226. Cohen BI, Pagnillo MK, Musikant BL, Deutsch AS. An In Vitro Study of the Cytotoxicity of Two Root Canal Sealers. J Endod 2000; 26(4): 228–9.

227. Eldeniz AU, Mustafa K, Ørstavik D, Dahl JE. Cytotoxicity of new resin-, calcium hydroxide- and silicone-based root canal sealers on fibroblasts derived from human gingiva and L929 cell lines. Int Endod J 2007; 40(5): 329–37.

228. Miletić I, Jukić S, Anić I, Željezić D, Garaj-Vrhovac V, Osmak M. Examination of cytotoxicity and mutagenicity of AH26 and AH Plus sealers. Int Endod J 2003; 36(5): 330–5.

229. Schroeder HE, Münzel-Pedrazzoli S, Page R. Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue in early chronic gingivitis in man. Arch Oral Biol 1973; 18(7): 899–923.

230. Garant PR. Collagen resorption by fibroblasts. A theory of fibroblastic maintenance of the periodontal ligament. J Periodontol 1976; 47(7): 380–90.

231. Mark Bartoldl P, Millar2 SJ. Effect of lipopolysaccharide on proteoglycan synthesis by adult human gingival fibroblasts in vitro. Infect Immun 1988; 56(8): 2149–55.

232. Sevinç M. Klinik ve Biyolojik Denemelerde LD50 ve ED50 Tahmin Yöntemlerinin Dağılım Türlerine, Doz Aralıklarına ve Denek Sayısına Göre Etkinliğinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyoistatistik Anabilim Dalı, 2016:2.

233. Sakaguchi RL, Powers JM. Craig's Restorative Dental Materials(13th Edition), Elsevier Mosby, Philadelphia, 2011.

234. Bouillaguet S, Degrange M, Cattani M, Godin C, Meyer JM. Bonding to dentin achieved by general practitioners. Schweiz Monatsschr Zahnmed. 2002; 112(10): 1006–11.

235. Moharamzadeh K, Brooki IM, Van Noortr R. Biocompatibility of Resin-based Dental Materials. Materials 2009; 2(2): 514–48.

236. Striz I, Brabcova E, Kolesar L, Sekerkova A. Cytokine networking of innate immunity cells: a potential target of therapy. Clin Sci (Lond) 2014; 126(9): 593–612.

237. Leng SX, McElhaney JE, Walston JD, Xie D, Fedarko NS, Kuchel GA. ELISA and multiplex technologies for cytokine measurement in ınflammation and aging research. J Gerontol B. 2008; 63(8): 879–84.

238. Kinane DF, Winstanley FP, Adonogianaki E, Moughal NA. Bioassay of interleukin 1 (IL-1) in human gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. Arch Oral Biol 1992; 37(2): 153–6.

239. Sinclair R, Eriksson AS, Gretzer C, Cassuto J, Thomsen P. Inhibitory effects of amide local anaesthetics on stimulus-induced human leukocyte metabolic activation, LTB4 release and IL-1 secretion in vitro. Acta Anaesthesiol Scand 1993; 37(2): 159–65.

240. Yanagi H, Sankawa H, Saito H, Iikura Y. Effect of lidocaine on histamine release and Ca^{2+} mobilization from mast cells and basophils. Acta Anaesthesiol Scand 1996; 40(9): 1138–44.

241. Hammer R, Dahlgren C, Stendahl O. Inhibition of Human Leukocyte Metabolism and Random Mobility by Local Anaesthesia. Acta Anaesthesiol Scand 1985; 29(5): 520–3.

242. Schreiner A, Hopen G. Adhesion and locomotion of human leukocytes in vitro; importance of protein coating; effect of lidocain, ethanol and endotoxin. Acta Pathol Microbiol Scand C 1979; 87(5): 333–40.

243. Eriksson AS, Sinclair R, Cassuto J, Thomsen P. Influence of lidocaine on leukocyte function in the surgical wound. Anesthesiology 1992; 77(1): 74–8.

244. Srivastava JK, Shankar E, Gupta S. Chamomile: A herbal medicine of the past with a bright future (review). Mol Med Rep 2010; 3(6): 895–901.

245. Presibella MM, Villas-Bôas LDB, Belletti KMDS, Santos CADM, Weffort-Santos AM. Comparison of chemical constituents of Chamomilla recutita (L.) rauschert essential oil and its anti-chemotactic activity. Braz Arch Biol Technol 2006; 49(5): 717–24.

246. Pavesi VCS, Lopez TCC, Martins MAT, Sant'ana Filho M, Bussadori SK, Fernandes KPS, et al. Healing action of topical chamomile on 5-fluouracil induced oral mucositis in hamster. Supportive Care in Cancer. 2011; 19(5): 639–46.

247. Martins MD, Marques MM, Bussadori SK, Martins MAT, Pavesi VCS, Mesquita-Ferrari RA, et al. Comparative analysis between Chamomilla recutita and corticosteroids on wound healing. An in vitro and in vivo study. Phytotherapy Research 2009; 23(2): 274–8.

248. Kazyukova TV, Ilyenko LI, Kotlukov VK. Duration and effectiveness of exposure of various drugs for pathological teething symptoms in infants. Pediatria 2019; 98(2): 133–40. (Russian)

249. Rosu S, Montanaro F, Rosu A, Oancea RA. Randomized, open-label, parallel-group multicentre study on the efficacy and tolerability of a non-medicated, patented gel for the relief of teething symptoms in infants. Ital J Pediatr 2017; 2: 45-54.

250. Chen M, Li L, Wang Z, Li P, Feng F, Zheng X. High molecular weight hyaluronic acid regulates P. gingivalis–induced inflammation and migration in human gingival fibroblasts via MAPK and NF-κB signaling pathway. Arch Oral Biol 2019; 98: 75–80.

251. Kim SK, Lee HS, Byeon KS, Lee YJ, Hong SM, Choi MR, et al. The effect of hyaluronic acid on anti-inflammatory action in mouse. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2010; 36(1): 16. (Korean)

252. Sánchez-Fernández E, Magán-Fernández A, O'Valle F, Bravo M, Mesa F. Hyaluronic acid reduces inflammation and crevicular fluid IL-1β concentrations in peri-implantitis: a randomized controlled clinical trial. J Periodontal Implant Sci 2021; 51(1): 63–74.

253. Cooper CA, Brown KK, Meletis CD, Zabriskie N. Inflammation and hyaluronic acid. Altern Complement Ther. 2008; 14(2): 78–84.

254. Litwiniuk M, Krejner A, Grzela T. Hyaluronic Acid in inflammation and tissue regeneration. Wounds 2016; 28(3): 78–88.

255. Bi WY, Fu BD, Shen HQ, Wei Q, Zhang C, Song Z, et al. Sulfated derivative of 20(S)-Ginsenoside Rh2 inhibits inflammatory cytokines through MAPKs and NF-kappa B pathways in LPS-Induced RAW264.7 macrophages. Inflammation 2012; 35(5): 1659–68.

256. Wróblewska KB, Plewa S, Długaszewska J, Froelich A, Muszalska-Kolos I. Design and evaluation of pharmaceutical availability, stability and quality of modified viscosity eye drops with choline salicylate. Eur J Pharm Sci 2021; 159:105725.

257. Schoenberger SD, Kim SJ. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for retinal disease. Int J Inflam 2013, Article ID 281981.

258. Ciprandi G, Buscaglia S, Tosca M, Canonica GW. Topical acetylsalicylic acid in the treatment of allergic pollinosic conjunctivitis. J Investig Allergol Clin Immunol 1992; 2(1): 15–8.

259. Taniguchi T, Shibata K, Yamamoto K, Mizukoshi Y, Kobayashi T. Effects of lidocaine administration on hemodynamics and cytokine responses to endotoxemia in rabbits. Crit Care Med 2000; 28(3): 755–9.

260. Peiró JR, Barnabé PA, Cadioli FA, Cunha FQ, Lima VMF, Mendonça VH, et al. Effects of lidocaine infusion during experimental endotoxemia in horses. J Vet Intern Med 2010; 24(4): 940–8.

261. Flondor M, Listle H, Kemming GI, Zwissler B, Hofstetter C. Effect of inhaled and intravenous lidocaine on inflammatory reaction in endotoxaemic rats. Eur J Anaesthesiol 2010; 27(1): 53–60.

262. Zhelnin E, Zukow W. Proinflammatory cytokines in patients with obstructed eruption of wisdom teeth. J HEALTH Sci 2014; 4(11): 193–202.

263. Nastri F, Maglio O, Lombardi PA, Lombardi A, Sharma A, Kumar A, et al. The effect of interleukin-8 truncations on its interactions with glycosaminoglycans. Biopolymers 2018; 109(10): e23103.

264. Langmead L, Makins RJ, Rampton DS. Anti-inflammatory effects of aloe vera gel in human colorectal mucosa in vitro. Aliment Pharmacol Ther 2004; 19(5): 521–7.

265. Na HS, Song YR, Kim S, Heo JY, Chung HY, Chung J. Aloin inhibits Interleukin (IL)-1β−stimulated IL-8 production in KB cells. J Periodontol 2016; 87(6): e108–15.

266. Gibson P, Rosella O. Interleukin 8 secretion by colonic crypt cells in vitro: response to injury suppressed by butyrate and enhanced in inflammatory bowel disease. Gut 1995; 37(4): 536–43.

267. Arai F, Takahashi T, Furukawa K, Matsushima K, Asakura H. Mucosal expression of interleukin-6 and interleukin-8 messenger RNA in ulcerative colitis and in Crohn's disease. Dig Dis Sci 1998; 43(9): 2071–9.

268. MacDermott RP, Sanderson IR, Reinecker HC. The central role of chemokines (chemotactic cytokines) in the immunopathogenesis of ulcerative colitis and Crohn's disease. Inflamm Bowel Dis1998; 4(1): 54–67.

269. Yardeni IZ, Beilin B, Mayburd E, Levinson Y, Bessler H. The effect of perioperative intravenous lidocaine on postoperative pain and immune function. Anesth Analg 2009; 109(5): 1464–9.

270. Cunha FQ, Lorenzetti BB, Poole S, Ferreira SH. Interleukin-8 as a mediator of sympathetic pain. Br J Pharmacol 1991;104(3): 765.

271. Stern Allergan ME, Schwalb T, Chan CC, Whitcup Allergan SM. Conjunctival T-cell subpopulations in Sjögren's and non-Sjögren's patients with dry eye. Invest Ophthalmol Vis Sci 2002; 43(8): 2609-2614

272. Čejková J, Ardan T, Šimonová Z, Čejka Č, Malec J, Jirsová K, et al. Nitric oxide synthase induction and cytotoxic nitrogen-related oxidant formation in conjunctival epithelium of dry eye (Sjögren's syndrome). Nitric Oxide. 2007; 17(1): 10–7.

273. Paludan SR, Pradeu T, Masters SL, Mogensen TH. Constitutive immune mechanisms: mediators of host defence and immune regulation. Nat Rev Immunol 2020; 21(3): 137–50.

274. Nelson FR, Zvirbulis RA, Zonca B, Li KW, Turner SM, Pasierb M, et al. The effects of an oral preparation containing hyaluronic acid (Oralvisc®) on obese knee osteoarthritis patients determined by pain, function, bradykinin, leptin, inflammatory cytokines, and heavy water analyses. Rheumatol Int 2015; 35(1): 43–52.

275. Sezgin M, Demirel AÇ, Karaca C, Ortancıl Ö, Ülkar GB, Kanık A, et al. Does hyaluronan affect inflammatory cytokines in knee osteoarthritis? Rheumatol Int 2005; 25(4): 264–9.

276. Nakamura K, Yokohama S, Yoneda M, Okamoto S, Tamaki Y, Ito T, et al. High, but not low, molecular weight hyaluronan prevents T-cell-mediated liver

injury by reducing proinflammatory cytokines in mice. J Gastroenterol 2004; 39(4): 346–54.

277. Neumann A, Schinzel R, Palm D, Riederer P, Münch G. High molecular weight hyaluronic acid inhibits advanced glycation endproduct-induced NF-κB activation and cytokine expression. FEBS Lett 1999; 453(3): 283–7.

278. Lee BM, Park SJ, Noh I, Kim CH. The effects of the molecular weights of hyaluronic acid on the immune responses. Biomater Res 2021; 25(1): 1–13.

279. Schmidt HHHW, Murad F. Purification and characterization of a human NO synthase. Biochem Biophys Res Commun 1991; 181(3): 1372–7.

280. Inuyama Y, Kitamura C, Nishihara T, Morotomi T, Nagayoshi M, Tabata Y, et al. Effects of hyaluronic acid sponge as a scaffold on odontoblastic cell line and amputated dental pulp. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2010; 92(1): 120–8.

281. Wise GE, Fan W. Changes in the tartrate-resistant acid phosphatase cell population in dental follicles and bony crypts of rat molars during tooth eruption. J Dent Res 1989; 68(2): 150–6.

282. Liu D, Yao S, Wise GE. Effect of interleukin-10 on gene expression of osteoclastogenic regulatory molecules in the rat dental follicle. Eur J Oral Sci 2006; 114(1): 42–9.

283. Wise GE, Yao S, Zhang Q, Ren Y. Inhibition of osteoclastogenesis by the secretion of osteoprotegerin in vitro by rat dental follicle cells and its implications for tooth eruption. Arch Oral Biol 2002; 47(3): 247–54.

284. Curtis LA, Dolan TS, Seibert HE. Are one or two dangerous? lidocaine and topical anesthetic exposures in children. J Emerg Med 2009; 37(1): 32–9.

285. Mofenson HC, Caraccio TR, Miller H, Greensher J. Lidocaine toxicity from topical mucosal application. Clin Ped. 1983; 22(3): 190–2.

286. Sakai RI, Lattin JE. Lidocaine ingestion. Am J Dis Child 1980; 134(3): 323–323.

287. Garrettson LK, Mcgee EB. Rapid onset of seizures following aspiration of viscous lidocaine. J Toxicol Clin Toxicol 2008; 30(3): 413–22.

288. Hess GP, Walson PD. Seizures secondary to oral viscous lidocaine. Ann Emerg Med 1988; 17(7): 725–7.

289. Smith M, Wolfram W, Rose R. Toxicity-seizures in an infant caused by (or related to) oral viscous lidocaine use. J Emerg Med 1992; 10(5): 587–90.

290. Balit CR, Lynch AM, Gilmore SP, Murray L, Isbister GK. Lignocaine and chlorhexidine toxicity in children resulting from mouth paint ingestion: A bottling problem. J Paediatr Child Health 2006; 42(6): 350–3.

291. Giard MJ, Uden DL, Whitlock DJ, Watson DM. Seizures induced by oral viscous lidocaine. Clin Pharm 1983; 2(2): 110.

292. Del Rey JG, Wason S, Druckenbrod RW. Lidocaine overdose: another preventable case? Pediatr Emerg Care 1994; 10(6): 344–6.

293. Rothstein P, Dornbusch J, Shaywitz BA. Prolonged seizures associated with the use of viscous lidocaine J Pediatr 1982; 101(3): 461–3.

294. Teoh L, Moses GM. Are teething gels safe or even necessary for our children? A review of the safety, efficacy and use of topical lidocaine teething gels. J Paediatr Child Health 2020; 56: 502–5.

295. Amitai YL, Whitesell L, Lovejoy Jr FH. Death following accidental lidocaine overdose in a child. N Engl J Med 1986; 314(3): 182–3.

296.https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-reports-rare-serious-and-potentially-fatal-adverse-effect-use-over (Erişim tarihi: 10.04.2023)

297. Aghazadeh Z, Falsafi P, Ghanizadeh M, Mardani Z, Sarvcharandabi M, Aghazadeh M. Comparison of cytotoxicity of cetylpyridinium chloride with sodium hypochlorite, chlorhexidine and halita as an endodontic ırrigant using MTT Assay. Avicenna J Dent Res 2018; 10(4): 126–32.

298. Fromm-Dornieden C, Rembe JD, Schäfer N, Böhm J, Stuermer EK. Cetylpyridinium chloride and miramistin as antiseptic substances in chronic wound management – Prospects and limitations. J Med Microbiol 2015; 64(4): 407–14.

299. https://www.gov.uk/drug-safety-update/oral-salicylate-gels-not-for-use-in-those-younger-than-age-16-years (Erişim tarihi: 10.04.2023)

300. Madan RK, Levitt J. A review of toxicity from topical salicylic acid preparations. J Am Acad Dermatol 2014; 70(4): 788–92.

301. Cheant Lim Y, Laxaman H, Mead R, Cameron EA. Oral gel choline salicylate induced refractory gastric ulceration. J R Soc Med 2014; 5(5):1–3.

302. Sapna N, Vandana KL. Evaluation of hyaluronan gel (Gengigel(®)) as a topical applicant in the treatment of gingivitis. J Investig Clin Dent 2011; 2(3): 162–70.

303. Koray M, Ofluoglu D, Senemtasi A, İşsever H, Yaltirik M. The efficacy of hyaluronic acid gel in pain control of recurrent aphthous stomatitis. Int J Dent Oral Sci 2016; 3(6): 273–5.

304. Haydar A, Qassab M, Kumar N. Effects of hyaluronıc acıd gel applıcatıon ın reductıon of post-surgıcal complıcatıons after lower wısdom teeth removal-a prospectıve study. Plant Archıves 2020; 20(1): 2796-2800.

305. Al-Bayaty F, Abdulla MA. A comparison of wound healing rate following treatment with Aftamed and chlorine dioxide gels in streptozotocin-induced diabetic rats. Evid Based Complementary Altern Med 2012, Article ID 468764.

EKLER

EK.1 ETİK KURUL ONAYI

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Birimi : Tıbbi Etik Kurul Başkanlığı **06.11.2020**
Kodu : 2011-KAEK-2
Sayı : 2020/470
Konu : Tıbbi Etik Kurul Kararı

Sayın; Dr. Öğr. Üyesi Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Diş Fakültesi
AFYONKARAHİSAR

İlgi: Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 06.11.2020 tarih ve 2020/472 sayılı kararı.

Sorumluluğunuzda yürütülecek olan **"Diş Sürme Döneminde Kullanılan Farklı Diş Jellerinin ve Bitkisel Yağların Sitokinler Üzerindeki Etkisinin İn-vitro İncelenmesi"** başlıklı çalışmanıza ilişkin alınan ilgi sayılı Etik Kurul Kararı ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinize ve gereğini rica ederim.

EK:
1-İlgi sayılı karar (1 sayfa)

06.11.2020 **Sekretarya: B.ÜNAL**

Ali Çetinkaya kampusü, Afyon – İzmir Yolu 8.Km 03200 / AFYONKARAHİSAR
Ayrıntılı bilgi için irtibat: Bülent ÜNAL
Telefon: 0. 272.2463301 – 2463304 **Faks:** 0. 272.2462707
e-posta: klinikarastirmalar@aku.edu.tr

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARARLARI

Toplantı Tarihi	06.11.2020	Toplantı Numarası	2020/13	Toplantı Saati	09:00	Etik Kurul Kodu 2011-KAEK-2

472- Dr. Öğr. Üyesi Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL' ın sorumluluğunda yürütülecek olan **"Diş Sürme Döneminde Kullanılan Farklı Diş Jellerinin ve Bitkisel Yağların Sitokinler Üzerindeki Etkisinin İn-vitro İncelenmesi"** konulu **Girişimsel Olmayan** Klinik Araştırmalar için başvuru dosyası incelendi. Araştırma protokolüne uyularak, Sağlık Bakanlığı'nın 13.04.2013 tarih 28617 sayılı Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmeliği ve yayımlanan kılavuzlarında belirtilen hususlar dikkate alınarak, sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere araştırmanın yapılmasında etik sakınca olmadığına toplantıya katılan üyelerin **oy birliği ile karar verildi**

EK 2. TEZ ADI DEĞİŞİKLİĞİ ETİK KURUL ONAYI

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Birimi : Tıbbi Etik Kurul Başkanlığı **01.04.2022**
Kodu : 2011-KAEK-2
Sayı : 2022/213
Konu : Tıbbi Etik Kurul Kararı

Sayın; Dr. Öğr. Üyesi Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
AFYONKARAHİSAR

İlgi: Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 01.04.2022 tarih ve 2022/213 sayılı kararı.

Sorumluluğunuzda yürütülecek olan 22.03.2022 tarihli dilekçenize ilişkin alınan ilgi sayılı Etik Kurul Kararı ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinize ve gereğini rica ederim.

EK:
1-İlgi sayılı karar (1 sayfa)

01.04.2022 Sekretarya: B.ÜNAL

Ali Çetinkaya kampusü, Afyon – İzmir Yolu 8 Km 03200 / AFYONKARAHİSAR
Ayrıntılı bilgi için irtibat: Bülent ÜNAL
Telefon: 0. 272.2463301 – 2463304 **Faks:** 0. 272.2462707
e-posta: klinikarastirmalar@aksu.edu.tr

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARARLARI

Toplantı Tarihi	01.04.2022	Toplantı Numarası	2022/4	Toplantı Saati	09:00	Etik Kurul Kodu 2011-KAEK-2

213- Dr. Öğr. Üyesi Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL' ın 22.03.2022 tarihli dilekçesi incelendi. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 11.09.2020 tarih ve 2020/430 sayılı kararı ile etik onay almış olan **"Diş Sürme Döneminde Kullanılan Farklı Diş Jellerinin ve Bitkisel Yağların Sitokinler Üzerindeki Etkisinin İn-vitro İncelenmesi"** başlıklı çalışmanın **"Farklı Topikal Diş Jelleri Uygulanan İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinin IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α ve IL-10 Sitokin Seviyelerinin İn-Vitro Olarak İncelenmesi"** olarak değiştirilmesine Araştırma protokolüne uyularak, Sağlık Bakanlığı'nın 13.04.2013 tarih 28617 sayılı Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmeliği ve yayımlanan kılavuzlarında belirtilen hususlar dikkate alınarak, sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere araştırmanın yapılmasında etik sakınca olmadığına toplantıya katılan üyelerin **oy birliği** ile karar verildi.

FARKLI TOPİKAL DİŞ JELLERİ UYGULANAN İNSAN GİNGİVAL FİBROBLAST HÜCRELERİNİN IL-1ß, IL-6, IL-8, TNF-α VE IL-10 SİTOKİN SEVİYELERİNİN İN-VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

ORIGINALITY REPORT

13%
SIMILARITY INDEX

MATCHED SOURCE

1	acikbilim.yok.gov.tr Internet	472 words — 3%
	acikerisim.erbakan.edu.tr Internet	< 1%
	https://acikerisim.erbakan.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/20.500.12452/8645/731300%20Dr.%20MERVE%20%c3%96ZGE%20K%20TEZ-en%20son%20hali.pdf?isAllowed=y&sequence=1	< 1%
	★https://acikerisim.erbakan.edu.tr/xmlui/handle/20.500.12452/5841	< 1%
	https://acikerisim.erbakan.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/20.500.12452/7506/663550.pdf?isAllowed=y&sequence=1	< 1%
	https://acikerisim.erbakan.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/20.500.12452/8155/694244.pdf?isAllowed=y&sequence=1	< 1%

EXCLUDE QUOTES	OFF	EXCLUDE SOURCES	OFF
EXCLUDE BIBLIOGRAPHY	OFF	EXCLUDE MATCHES	OFF