**YAKINDOĞU ÜNİVERSİTESİ**

**DİŞHEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

Prof.Dr.Atilla BERBEROĞLU

**İLERİ PERİODONTAL TANI TEKNİKLERİ**

Klinik ataçman ve kemik kaybının incelenmesi periodontal hastalığa bağlı yıkımın miktarını ve şiddetini gösterir ama daha çok geçmiş olaylar hakkında bilgi sahibi oluruz. Klasik teknikler hastalığın; o anda ilerleyip ilerlemediğini, bireyin hastalığa duyarlılığını ve tedaviye yanıtının nasıl olacağı konusunda fikir vermez.

Periodontal hastalık etkilenen alana özgü ve multifaktöriyel (patojenler, konak yanıtı, genetik, sistemik ve bireysel risk faktörleri) etiyolojiye sahip bir hastalıktır. Bu nedenle konvansiyonel tekniklere ek olarak mikrobiyolojik, immünolojik, sistemik, genetik verilere ve hastanın davranışsal özellikleri konusunda bilgilere de gereksinim vardır.

**Klinik Teşhise Yönelik İlerlemeler**

*Dişeti Kanaması*

*Dişeti Isısı*

*Periodontal Sontlama*

**Dişeti Kanaması.** Dişeti iltihabının çok erken dönemlerine ortaya çıkan hassas bir belirteçtir. Renk ve konturdaki değişimlerin aksine objektif bir bulgudur. Dişeti iltihabı ve kanama arasında bir ilişki vardır. Ancak hastalığın ilerleyişi ve ataçman kaybı ile arasındaki ilişki tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Sağlıklı bireylerde 0.25 gr’dan büyük kuvvet ile yapılan sontlama dişeti kanamasına neden olabilir.

**Dişeti Isısı**

Dişeti iltihabı sonucunda doku ısısında artış meydana gelmektedir. 0.10C’lik değişimlere duyarlı termal prob’larla (Peritemp®) erken iltihabi değişimler belirlenebilir. Bu yöntemle yapılan ölçümler dişin ağızdaki konumundan ve cep derinliğinden etkilenebildiğinden her zaman doğru sonuç alınamamaktadır.

**Periodontal Sontlama**

Hastalığa bağlı doku yıkımının ölçülmesinde en çok kullanılan tanısal araçtır. Cep derinliğindeki sürekli artış ve klinik ataçman kaybı periodontal hastalığın patolojik özelliğidir. Ölçüm sonuçları hastanın dosyasındaki kartına kaydedilir. Böylece cep derinliklerindeki artışı, tedavi sonrası azalmayı ve klinik ataçman miktarındaki kazancı belirlemek için kullanılır.

Ancak;

* Duyarlılık ve tekrarlanabilirlikte sorunlar vardır.
* Histopatolojik cep derinliğini ölçemez.
* Sondun penetrasyonu bağ dokusundaki iltihapla paralellik gösterir (iltihap yoksa direnç artar)

Ölçümlerde farklılıkların nedenleri

* Sontlama tekniği
* Uygulanan kuvvet ( 30 gr birleşim epiteli, 50 gr kemik defektleri)
* Sondun derecelendirilmesi (1 mm)
* Giriş açısı
* Kalibrasyondaki hassasiyet

National Institute of Craniofacial Research (NIDCR) toplantısı sonucunda periodontal sontlama konusunda bir takım kıstaslar belirlenmiştir.

**Limitler Konvansiyonel NIDCR Kriterleri**

Hassasiyet 1 mm 0.1 mm

Maks. Derinlik 12 mm 10 mm

Sondun Kuvveti Standart değil Sabit ve standart

Uygulanabilirlik Non-invaziv ve kolay Non-invaziv, hafif ve kolay

Ulaşılabilirlik Kolay Kolay

Açılama Sübjektif Rehberlik sistemi

Güvenlik Kolay sterilizasyon Ağıza giren bölümleri steril

Okuma Sesli ve yazılı Direkt elektronik okuma

Bu kıstaslara göre tasarlanan Florida Probe®, manuel sondlamaya göre daha güvenilir ölçümler yapar. Daha sonra Toronto Automated Probe, Foster-Miller Probe, Interprobe®, Periprobe® gibi sistemler geliştirilmiştir.

**RADYOGRAFİK İNCELEMEDEKİ GELİŞMELER**

*Dijital Radyografi*

*Subtraction Radyografi*

*Computer- Assisted Densitometric Image Analvsis System (CADIA)*

Konvansiyonel radyograflarla; interproksimal kemik düzeylerinin ölçümü yapılabilir ve periodonsiyum incelebilir (kök boyutları, kökler arası mesafe, periapikal lezyonlar, kalan kemiğin miktarı). Ancak, kemik kaybı belli bir miktara ulaşmadan (%30) konvansiyonel tekniklerle belirlenmesi çok zordur. Hassasiyet derecesi de düşüktür (radyografta kemik kaybı görünüyorsa periodontal hastalık mevcuttur, ancak radyografta kemik kaybının görünmemesi halinde her zaman hastalığın bulunmadığı söylenemez).

**Nedenleri**

* Projeksiyon geometrisi
* Kontrast ve yoğunluktaki değişimler
* Diğer anatomik yapıların kemikteki değişimlerin maskelemesi

**Dijital Radyografi**

1. Sayısal görüntüler kullanılır.
2. Radyasyon dozu daha düşüktür. (1/2- 1/3 oranında)
3. Direkt ve indirekt yöntemlerle çalışılabilir.
4. Direkt yöntemde fiber optik sensor kullanılır.
5. Real-time görüntüleme olanağı vardır.
6. Eski görüntülerle karşılaştırılabilir.
7. İndirekt yöntemde fosfor ışımalı plak kullanılır, lazer tarayıcı ekspoze plakları okur ve depolar.

**Subtraction Radyografi**

Seri filmlerin dijital görüntülere çevrilmesine dayanır. Kemik yoğunluğundaki (veya hacim) değişiklikler görülür. (açık alanlar kemik yapımı, koyu alanlar kemik kaybını gösterir) Bu yöntemde paralel teknik ile elde edilen radyograf mikro fotometre ile taranır ve niceleyici değişimler bilgisayar ile saptanır (computer-assisted subtraction radiography)

Bu teknikle;

* Alveol kemikteki ve ataçman seviyesindeki değişimler görülür.
* Küçük kemik lezyonları konvansiyonel radyograflara göre daha iyi saptanır. (0.49 mm kemik kaybı)
* İstenmeyen anatomik görüntüleri çıkararak küçük değişiklikleri saptanabilir hale getirilir.

Dezavantajı tüm çekimlerin aynı açı ve pozisyonla çekilmesi gereğidir. Bu nedenle Tanısal Subtraction Radyografi tekniği geliştirilmiştir.

**Computer- Assisted Densitometric Image Analvsis System (CADIA)**

1. Video kamera radyograftan yansıyan ışığı ölçer ve skala çıkarır.
2. Ara yüz birimi ve bilgisayara bağlanır.
3. Dijital subtraction analize göre daha hassas olup tekrarlanabilir özelliktedir.

**MİKROBİYOLOJİK ANALİZDEKİ GELİŞMELER**

* Bakteriyel Kültür
* Direk Mikroskobi
* İmmünodiyanostik Yöntemler
* Enzimatik Yöntemler
* DNA Probe Teknolojisi

Bu yöntemlerle elde edilen veriler; farklı periodontal hastalıkların teşhisinde, hastalık aktivitesinin belirlenmesinde, yıkım için risk bölgelerinin saptanmasında ve tedavinin yönlendirilmesinde kullanılırlar.

**Periodontoloji Kliniğinde Mikrobiyolojik Tanı**Periodontal hastalıkların tek bir mikroorganizmanın etken olduğu klasik enfeksiyon hastalıklarından değildir. Bu nedenle, mikrobiyolojik yöntemlerin klinik yararı tartışmalıdır. Mikrobiyolojik tanının anlamlı olması için hastalığın tanısını, tedavi planını ve tedavi sonuçlarını etkilemesi gerekir.

Son yıllarda, periodontal hastalığın yapısını daha iyi anlayabilmek üzere mikrobiyolojik yöntem; konak yanıtı ve doku yıkımının göstergeleri birlikte incelenerek değerlendirilmektedir. DOS'da veya tükürükte şunlara bakılır: IL-1β, IL-6, TNF-α, Prostoglandin E2 (PGE2), MMP-8 (kollagenaz -2), MMP-9 (jelatinaz-B), MMP-13 (kollegenaz- 3), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), kollagen tip 1'in piridinoline çapraz bağlı karboksiteminal telopeptid (ICTP: pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type i collaqen), katepsin B, kalprotektin, osteokalsin, osteonektin ve osteopontin (OPN). IL-l ( IL-1α+4845 ve IL-β+3954) genotipine göre periodontal hastalığa genetik duyarlılık belirlenebilmektedir. IL-1 genetik polimorfizm testi ve periodontal duyarlık testi (PTS: Periodontal Susceptibilty Test, Interleukin Genetics,Waltham, Massaschusetts) adıyla ABD'de piyasada bulunmaktadır. ABD'de diş hekimliğinde tanı testleri üzerinde yıllardır çalışan özel kuruluşlar vardır.

Alman Diş, Ağız ve Maksiler Hastalıklar Derneği, mikrobiyolojik tanıya ve dolayısıyla antibiyotik kullanımına elverişli olan periodontal hastalıkları şöyle sıralamıştır:

1-Agresif periodontitis

2-Şiddetli kronik periodontitis

3-Tedaviye karşın ataşman kaybının sürdüğü periodontal hastalıklar

4-Ateş, belirgin lenfadenopati ve komşu boşluklara yayılma eğilimi gösteren periodontal apse

5- Sistemik belirtileri olan nekrotik ülseratif gingivitis ya da periodontitis; 6-Sistemik hastalık ya da bağışıklık sistemi bozulmuş kişilerde periodontitis.

**Bakteriyel Kültür**

* Subgingival mikroflora hakkında kesin bilgi verir.
* Seçici olan ve olmayan besi yerleri kullanılır
* Biyokimyasal ve fiziksel testler yapılabilir
* Türlerin sayısı belirlenebilir
* Antibiyotik duyarlılık testleri yapılabilir
* Sadece canlı bakteriler ürer
* Örnekleme ve transport zorluğu vardır
* Pahalı, eğitimli personel ve cihaz gereklidir

**Direk Mikroskobi**

* Karanlık alan (Dark field) veya faz kontrast mikroskobisi
* Plak örneğinde hızlı ve direk inceleme
* Mikroorganizmaların hareketleri gözlenebilir.

Ancak bu yöntemle önemli periodonto-patojenler olan *A.a, P. Gingivalis, B. Forsthus, E. Corodens, Fusobakterium* alt türleri görülemez. Ayrıca *Treponema* türleri de ayırt edilemez.

**İmmünodiyanostik Yöntemler**

Hedef mikroorganizmaları saptamak için spesifik bakteriyel antijenleri tanıyan antikorlar kullanırlar. Farklı teknikler mevcuttur.

1. İndirekt ve direkt immünoflüoresan Mikroskobik Assay (IFA). Bir flüoresan işaretleyici ile bağlanmış monoklonal ve poliklonal antikorların bakteri antijenine kenetlenmesinin mikroskop altında incelendiği yöntemdir.

* Patojeni tanır ve plaktaki miktarını gösterir.

1. Flow Sitometri. Bakteri antijenleri ve antikorları da içeren bir süspansiyonunun dar tüplerden geçerken sayılması esasına dayanır.

* Karmaşık ve pahalı yöntemdir.

1. ELİSA. Antijen antikor arasında gerçekleşen reaksiyona bağlı olarak meydana gelen renk değişiminin incelenmesiyle yapılır. Meydana gelen renk değişim miktarının değerlendirmesiyle:

* Patojenlere karşı serum antikor düzeylerini gösterir.
* Kantitatif bir tekniktir.

1. Lateks aglütinasyon. Bir solüsyon içindeki antijenlerin, üzerine antikorlar eklenerek birbirlerine bağlanmaları ve çökelmeleri sağlanır.

* Basit ve çabuk sonuç veren bir tekniktir.

Bu yöntemler

* İmmünolojik testler ticari olarak kolay ulaşılabilir özellikte değillerdir.
* Poliklonal Antikorlarla hatalı pozitif sonuçlar ortaya çıkabilir.
* Monoklonal Antikorlarla hatalı negatif sonuçlar ortaya çıkabilir.
* Ölü hedef hücreleri tanımlar.
* Antibiyotik duyarlılık testleri uygulanamaz.

**Enzimatik Yöntemler**

Tripsin bezleri enzime sahip olan B. forsthus, P. gingivalis, T. denticola, Capnocytophaga alt türleri ve benzoylarginine β-naphthylamide (BANA) ile aktiviteleri ölçülür. Ticari adı Perioscan olan sistem ile bu bakterilerin bulunup bulunmadıkları belirlenebilmektedir.

Sığ ceplerde BANA testi % 10 oranında pozitif çıkar, 7mm’den daha derin ceplerde bu oran % 80-90 dolaylarındadır. Klinik olarak sağlıklı ceplerde BANA pozitif çıkabilir. Ayrıca diğer önemli patojenleri göstermez.

**DNA Probe Teknolojisi**

**Nükleik Asit Problar**

1. Enzim veya radyoizotopla işaretli tek sarmallı nükleik asit parçaları vardır.
2. Komplementer NA dizine bağlanır.
3. Hedef olmayan mikroorganizmalarla çapraz reaksiyon vermez.
4. Hedef bakterileri hızlı saptar (Aa, P. gingivalis, C. rectus, P. intermedia, E. corrodens, F. nucleatum, T. denticola)
5. 102-104 bakteriye kadar belirleyebilir.

**REA (Restriction Endonuclease Analysis)**

Belirli baz çiftlerinin ayrılması endonükleaz ile sağlandıktan sonra elde edilen DNA fragmanları elektroforez uygulamasıyla ayrılırlar. Etityum bromür ile boyanır ve ultraviyole ışık altında görünür hale getirilir ve türlerin tanımlanması ve popülasyondaki dağılımları belirlenebilir.

Periodonto-patojenlerin aile bireyleri arasındaki geçişi gösterilmesinde de kullanılır.

**PCR (Polymerase Chain Reaction)**

Nükleik asit testleri arasında en hassas olanıdır. Araştırılan türe ait belirli bir DNA bölgesine ait baz zinciri çoğaltılarak tespit edilebilir düzeylere getirilir. (5-10 hücreye kadar bakterileri saptar)

**Konak Cevabı ile İlgili Gelişmeler**

Hastalıktaki yıkıcı süreçle ilgili

* Aktiviteyi
* İlerleme hızını
* İzlediği yolu
* Yaygınlık ve şiddeti
* Tedaviye yanıtı inceler

Örnekleme Bölgeleri

1. Salyadan elde edilen örneklerde konak kaynaklı enzim ve proteinler fenotipik marker’lar- konak hücreleri- hormonlar- bakteriler ve çeşitli iyonlar incelenebilir. Örnekleme bölgesi parotis, submandibular, sublingual bezler veya tüm salya olabilir.

2.DOS(dişeti oluğu sıvısı):

* Konak enzimleri
* Doku yıkım ürünleri
* İltihabi mediyatörler

3.Kan serumu

4.Kan hücreleri

5.İdrar (Genç çocuklarda hipofosfatazya)

**İltihabi Ürünler ve Mediyatörler**

1.Sitokinler

* TNF-α
* IL-1β
* IL-1α
* IL-6
* IL-8

2.PgE2

**Enzimler**

1. **Aspartat Aminotransferaz.** AST ölü hücrelerden salınan bir enzimdir. Periodontal dokularda AST düzeyi artışı gingival inflamasyon ve yakın geçmişte meydana gelmiş ataçman kaybıyla ilişkilidir.
2. **Alkalen Fosfataz.** Hastalıklı bölgelerde ALP miktarı artmaktadır.
3. **Β-Glukuronidaz.** Nötrofillerin azurofilik granüllerinden yer alan lizozomal bir enzimdir. Enzim düzeyindeki artışın bireyin hastalığa yatkınlığıyla ilgili olduğunu gösteren çalışmalar var.
4. **Elastaz.** Nötrofillerin granüllerinde yer alan bir serin proteinazdır. Tam olarak açıklığa kavuşmamakla birlikte elastaz düzeylerindeki artışın bireyin hastalığa yatkınlığını gösteren bir marker olabileceği savunulmaktadır.
5. **Katepsinler.** Doku yıkımında rol oynayan bir grup asidik lizozomal enzimdir. Hastalığın şiddetinin arttığı durumlarda seviyesi yükselmekte ve tedavi sonrası miktarı azalmaktadır.
6. **Matriks Metalloproteinazlar (MMP).** Ekstrasellüler matriksi oluşturan yapıların yıkımı ve remodelasyonunda rol oynayan bir enzim grubudur. Fibroblast, makrofaj gibi farklı hücreler ve doku inhibitörleri tarafından salınımları kontrol edilir. MMP düzeylerindeki artış veya azalmanın periodontitisle ilişkili olduğunu gösterilmiştir.

**Doku Yıkım Ürünleri**

Kollajen yıkımıyla artan *hidroksiprolin* ve eksraselüler matriks yıkımıyla artan *glikozaminoglikan* düzeyleri ölçülerek doku yıkımı hakkında bilgi elde edilebilir.

Alveoler kemik yıkımı sonucunda da *osteokalsin* ve *tip bir kollajen peptitller*’inde artış görülmektedir.

**Sonuç**

Periodontal hastalığın; aktivitesini ve ilerlemesini incelemek için elimizde çok sayıda yöntem olsa da birçok açıdan yetersiz kalmaktadırlar. Yapılan yoğun araştırmalara rağmen hala periodontal hastalığın ilerlemesini önceden belirleyecek, hastalığın insidans ve prevelansını kesin olarak ortaya koyacak, basit, güvenilir ve ekonomik bir tanısal yöntem henüz geliştirilememiştir.