EÜ Dişhek Fak Derg 2010; 31: 69-81

Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS) Elde Etme Sürecine Etki Eden Potansiyel Faktörler

Potential Factors Which Affect Gingival Crevicular Fluid Sampling Procedures

Hasan HATİPOĞLU

Dumlupınar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Eğitim, Uygulama ve Araştırma Merkezi, Diş Hekimliği Birimi/ Periodontoloji, KÜTAHYA

Özet

Dişeti oluğu sıvısı (DOS) kendine özel yapısı nedeniyle periodontal sağlık ve hastalık hakkında bilgi verme potansiyeline sahiptir. Bu yapısı nedeniyle sıvının teşhis basamağında önemli veriler sunabileceği düşünülmektedir. DOS örneklerinin elde edilmesi girişimsel olmayan ve objektif değerlendirmeye izin veren bir süreç olması, bölgesel düzeyde incelemelere olanak vermesi tanısal potansiyelinin önemli bir unsurunu oluşturmaktadır. DOS'un elde edilmesinde kullanılan değişik yöntemler vardır. Her değerlendirme yönteminin kendisine ait avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Günümüzde henüz kabul edilmiş ideal DOS örnekleme protokolü mevcut değildir. Son yıllarda ideal bir DOS örnekleme stratejisinin geliştirilmesine yönelik önerilere literatürde sıklıkla rastlanmaktadır. Birçok çalışmada örneklemelerin elde edilmesi sürecinde hacimsel ve içerik değişimlerine neden olabilecek bazı potansiyel faktörlerin gözetilmesi gerekliliğinin altı çizilmektedir. Bu faktörlerden bazıları ana hatlarıyla; DOS elde edilmesi ve hacminin belirlenmesi sürecinde dikkat edilmesi gereken hususlar ve çevresel (buharlaşma, oda sıcaklığı-nem vb.) faktörlerdir. Bu derlemenin amacı DOS'nın elde edilmesi ve değerlendirme sürecinde metodolojik açıdan, sıvıya etki edebilecek potansiyel faktörleri (kısmen veya tamamen kontrol edilebilen-edilemeyen) ele almak ve sistematik olarak irdelemektir.

Anahtar sözcükler: Dişeti oluğu sıvısı

Abstract

Gingival crevicular fluid (GCF) has the potential to give diagnostic information regarding periodontal health or disease status. GCF collection is a non-invasive, objective and site-specific assessment that can be used for diagnostic purposes. GCF measures are also highly sensitive to sampling techniques. It gives different collection methods to evaluate GCF volume and contents. Each method has its own advantages and disadvantages. A ideal GCF sampling protocol does not exist at the present time. In recent years, the need of an ideal GCF sampling strategy is frequently mentioned. The need for standardization of some factors with the potential for altering volume and content are frequently underlined. Some of these factors are depended on sampling procedures, methods of evaluation of the amount of fluid collected and environmental (evaporation, room humidity and temperature) factors. This review has the purpose to evaluate the factors which has the potential to affect a accurate sampling.

Keywords: *Gingival crevicular fluid*

Giriş

Dişeti oluğu sıvısı (DOS) kan plazmasından köken alan,[1] dişeti oluğunda farklı komposizyonlarda bulunan[2] ve dişeti oluğunun ekolojisini belirleme özelliğine sahip[3] eksuda özelliklerini taşıyan bir biyolojik sıvıdır. DOS içeriğindeki hücresel bileşenler (epitel, bakteri, lökositler, eritrositler, lökositler, virüsler ve yan ürünleri),[4-6] elektrolitler,[7,8] bakteriyel-metabolik ürünler,[9,10] sitokinler,[11-13] konak ve bakteri kaynaklı enzim ve enzim ürünleri-inhibitörleri (asit fosfataz, alkalen fosfataz, aspartat aminotransferaz, laktat dehidrogenaz, aril sülfataz vb.),[7,8,14-18] ve immünoglobulinler[19,20] sıvının karakteristik özelliklerini oluşturarak bu sıvının periodontal hastalık acısından önemini ortaya koymaktadır. Öte yandan sistemik olarak alınan ilaçların da

Kabul Tarihi: 29.03.2011

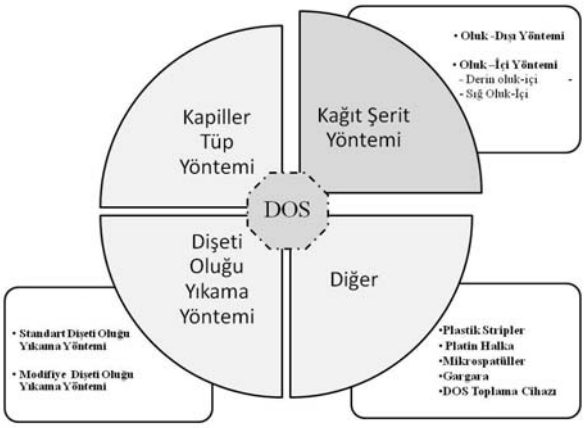
DOS'a[21-23] geçtiği ve sıvıyı etkilediği görülmüştür. İmplantların etrafında yer alan peri-implant oluğu sıvısı da DOS'a benzer nitelikler taşımaktadır.[24-26] Periodontal patogenezin anlaşılmasında akut yıkım fazlarının belirlenmesi düşüncesi DOS'nda çalışmaların artmasına yol açmıştır.[4]

DOS'un biyodinamik özelliklerinin günümüzde daha iyi anlaşılması ile bu özelliklere uygun ideal bir örnekleme metodolojisinin geliştirilmesi bu konuyla ilgili çalışmaları hızlandırmıştır.[3] Yıllar içinde gelen bilgi birikimine karşın, DOS ile ilişkili olarak henüz açıklanamamış, tanımlanamamış özelliklerin varlığı, aydınlatılması gereken mekanizmaların ve cevaplandırılması gereken soruların bulunduğu görülmektedir.[3] DOS hacmi, DOS hacmi ile sıvının içeriği arasındaki ilişki ve buna bağlı olarak veri sunum modellerinin hassasiyetlerine yönelik bilgilerin artması, ideal bir DOS metodolojisinin oluşması bakımından önemlidir. DOS, basit gibi görünen, aslında detaylı ve dikkat gerektiren bir süreç sonunda elde edilmektedir. DOS elde etme sürecinde, DOS'u etkileme potansiyeline sahip birçok faktör mevcuttur (Şekil 1). Seks hormonları, sirkadyen ritim, diyabet gibi sistemik hastalıklar, hasta ile ilişkili faktörleri oluşturmaktadır. Öte yandan DOS örneği üzerine etkisi bulunan, DOS elde etme ve değerlendirme yöntemleri ile bunlara etki eden çevresel (ısı-nem, buharlaşma vb.) faktörler mevcuttur [7]. Belirtilen tüm bu faktörlerin etkileri kontrol edilebilir (kısmen veya tamamıyla) veya kontrol edilemez niteliktedir. Bu etmenlerin gözetilerek DOS örneğinin elde edilmesi şüphesiz metodolojik acıdan daha doğru bir yol izlemek anlamına gelecektir. Bu faktörler gözetilerek elde edilen DOS örneğinde hacimsel ve içeriksel etkilerinin bilinmesi, DOS-ilişkili çalışmalarda ideale yakın bir örnekleme sürecinin gerçekleştirilmesi basamağında katkısı olacağı öngörülebilir.

Bu derlemede örnekleme öncesi ve esnasında, özellikle DOS elde etme sürecini etkileyebilecek faktörlerin (özellikle kısmen veya tamamen kontrol edilebilir) her biri kendi konu başlığı altında alt başlıkları ve detayları ile birlikte irdelenecektir.

Şekil 1. DOS elde etme sürecine etki eden başlıca faktörler

DOS örneklerinin elde edilmesinde birçok yöntem göze çarpmaktadır (Şekil 2). Her yöntemin kendi içinde avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Dolaysıyla araştırmalarda bu husus göz önünde bulundurulmalı ve çalışma tasarımı buna göre oluşturulmalıdır.



Şekil 2. DOS elde etme yöntemleri. DOS örneğinin elde edilmesinde son yıllarda özellikle ticari olarak üretilmiş standart boyut ve emiciliğe sahip kağıt şeritlerin kullanımı ön plana çıkmaktadır.

DOS elde etme yöntemleri

I. Kapiller tüp yöntemi:

Bu yöntemde belli çap ve uzunluktaki tüpler dişeti oluğuna konumlandırılır ve sıvı aspire edilmeye çalışılır. Egelberg[27] bu yöntemi kapiller tü-

pün dişeti oluğuna konumlandırılması sonrasında, tüpün 2–4 kez mezial ve distal yöne hareket ettirilmesi ve bu esnada aspirasyon yapılması şeklinde tarif etmiştir. Kaslick ve ark.[28] bu tekniği geliştirmişlerdir. Bu yöntem özellikle DOS'nda hacim artışının beklendiği periodontal hastalıklı bireylerde kullanım alanı bulmaktadır. Bu yöntem ile doğal, seyreltilmemiş DOS elde edilebilmektedir. Ancak DOS miktarının oldukça az olduğu sağlıklı dişetinde sıvının elde edilmesi ve hacim tayinin yapılması oldukça zor olabilmektedir. Diğer bir husus olarak ta DOS'nın viskozitesi sıvı alımını zorlaştırabilmektedir. Küçük hacimli sıvıların elde edilmesi esnasında kapiller tüplerin bölgede uzun zaman konumlandırılması gerekmektedir. Bu durumun sulküler bölgeye travmatik etki yapabileceği bilinmelidir.[29] Özellikle bu gibi klinik durumlarda yerleştirilen bu tüplerin, diğer bir DOS elde etme yöntemi olan kağıt şerit yöntemine göre dişeti oluğuna daha fazla travma oluşturabileceği bildirilmektedir.[30]

II. Dişeti Oluğu Yıkama Yöntemi:

Bu yöntemin mantığı, dişeti oluğunun bilinen özellikte ve miktarda bir sıvı ile yıkanması ve geri toplanmasıdır. Bu şekilde hücresel bileşenler ve plazma proteinlerini içeren seyreltilmiş bir DOS elde edilmiş olur. Dişeti oluğu yıkama yönteminde örnekleme bölgesi pamuk rulolar ile izole edilerek özel solüsyonlarla (genelde Hanks solüsyonu) yıkanır ve bir mikro şırınga vasıtasıyla DOS ve bölgeye verilen sıvı geri kazanılır.[29,31,32] Bu yöntemde izlenen olumsuzluklar sıvının geri kazanımında ortaya çıkmaktadır. Sıvının yıkama sonrası tam olarak elde edilmesi mümkün olmayabilir. DOS hacmi ve içeriği doğru olarak tayin edilemeyebilir.[29] Mevcut diğer dişeti oluğu yıkama yönteminde ise, bireylere akrilikten özel bir plaka hazırlanıp miktarı bilinen solüsyonlarla dişeti oluğu yıkanır ve plakalardaki özel olarak hazırlanmış tüpler vasıtasıyla verilen sıvı geri emilerek, bölgedeki DOS ve plakaya verilen sıvı elde edilir.[33] Bu yöntemin zorluğu, her bireye kendisine özel akrilik plaka hazırlanması gerekliliği ile az sayıda bireyden örnekleme yapılabilmesidir. Bu yöntemde bölgesel çalışılamamaktadır.[29] İki yöntemin ortak bir dezavantajı da bu yöntemlerin alt çenedeki kontaminasyon riski nedeniyle sadece üst çene de uygulanabilir olmasıdır.[29]

III. Kâğıt şerit yöntemi

Bu yöntemde DOS elde edilmesi için dişeti oluğu bölgesine farklı şekillerde konumlandırılan kâğıt şeritler kullanılmaktadır. Günümüzde bu yönteme sık başvurulmaktadır. Teknik esas olarak oluk dışı ve oluk içi olarak ikiye ayrılır.

Oluk dışı teknikte, kâğıt şerit oluk içine konumlandırılmaz. Bu yöntemde kâğıt şerit genelde dişin bukkal yüzeyine oluk girişine yakın şekilde konumlandırılır.[7] Bu yöntemin sulkusa etkisi minimaldir ancak örnekleme süresi uzun ve elde edilen sıvı miktarı azdır.[34] Bu yöntemde kâğıt şeridin konumundan dolayı salya ve plak kontaminasyon riski artış göstermektedir.[7]

Oluk içi yöntemler kendi içinde ikiye ayrılmaktadır. Bunlardan biri derin oluk içi yöntemdir. Bu yöntem uyarınca kâğıt şerit oluk içinde tabanda direnç hissedilene kadar ilerletilmektedir.[13,35-37] Diğer oluk içi yöntem olan sığ oluk içi yöntemde kağıt şeritler sulkus girişine (yaklaşık 1 mm derinliğe) konumlandırılmaktadır.[11,29,35] Sağlıklı dişetinde cep derinliğinin az olması nedeniyle sığ oluk içi yönteminin derin oluk içi yöntemden farkı kalmamaktadır.[29] Kağıt şeritlerin tabana kadar ilerletilmesinin mekanik irritasyonu ve sıvı hacmini artırdığı bildirilmektedir.[35,38] Kağıt şeritlerin sulkus içinde ilerletilmesinin epitele zarar verebileceği, bunun da sıvının eksuda özelliğindeki akışını tetikleyebileceği ileri sürülmektedir.[39] Oluk içi örneklemenin dento-gingival damarlardaki geçirgenlik reaksiyonlarını daha iyi şekilde ortaya koyabileceği yönündeki bilgi literatürde mevcuttur.[40] Bilimsel kaynaklara bakıldığında, DOS elde edilmesi esnasında kağıt şeritlerin dişeti oluğundaki konumu hakkında bilgi vermeyen çalışmalara da rastlamak mümkündür.[12,22,41]

İdeal DOS örnekleme süresi henüz saptanamamıştır. Örnekleme süreleri literatürde 3 sn,[14] 5 sn,[42,43] 15 sn,[44,45] 20 sn,[46,47] 25 sn,[48] 30 sn,[30,49-53] 1 dk,[54] 90 sn[55] 2 dk[56,57] ve 3 dk[58-60] gibi

süreler göze çarpmaktadır. Yine ilgili araştırmalar incelendiğinde, süre konusunda herhangi bir bilgi vermeyen[21] veya görsel olarak belli bir DOS miktarı elde edilene kadar örneklemenin devam ettirildiği [61] çalışmalar mevcuttur. Ancak genel kanı örnekleme süresinin uzatılması ile mekanik irritasyon ve kontaminasyon (salya-plak) riskinin arttığı yönündedir.[7,35,62] Tekrarlayan DOS örneklemelerinin ele alındığı çalışmalar incelendiğinde, hem örnekleme süreleri.[35,50,62,63] hem de örneklemeler arasındaki bekleme süreleri[35,50,62,63] arasında belirlenmiş bir standart yoktur. Tekrarlayan DOS örneklemelerinde birçok sıvı bileşeni ilk ölçümlerde en yüksek düzeyde izlenmektedir. Daha sonraki ölçümlerde bileşen miktarlarının azalma trendinde olduğu görülmüştür.[62,63] Tekrarlayan DOS örneklemelerinde, DOS hacminin belli bir süre sabit kaldığı daha sonra zaman ile artış gösterdiği belirtilmiştir.[53] Bahsi geçen DOS örnekleme yöntemlerinin dışında tanımlanmış başka DOS elde etme yöntemleri (plastik stripler, platin halka, mikrospatüller ve gargara, geliştirilmiş DOS toplama cihazı) mevcuttur.[7,64,65] Ancak literatüre bakıldığında bunların günümüzde kullanım alanı dardır.

Kâğıt şerit yönteminde DOS hacminin belirlenmesi

Kâğıt şeritler ile DOS elde edilmesi sonrasında, sıvı hacminin değerlendirilmesindeki yöntemlerin hassasiyeti, DOS çalışma metodolojisi acısında önemli bir yere sahiptir.

a. Kâğıt şeritlerdeki ıslak alanların mikroskop altında incelenmesi:

Yüzey alanı belli olan bir kâğıt şeritteki ıslak yüzeyin hesaplanmasını esas alan bir DOS hacim tespit yöntemidir. Doğru bir tespit için elde edilen örnekler ninhidrin (α- amino grubuna özel mavi veya pembe renkte bir boya) ile boyanır ve değişik yöntemlerle (ör: kalibre edilmiş büyütücü camlar altında veya fotometrik-planimetrik teknikler vb.) ıslak alanlar tespit edilebilir.[7,29,42,60,66] Yöntemin bir diğer uygulama şekli de sistemik olarak verilen floreseinin (flüoresan bir boya) sulkusta açığa çıkması sonucunda, kağıt şeritler ile elde edilen DOS örneklerinde, mevcut ıslak alanların ültraviyole ışık altında incelenmesidir.[29,67] Bu yöntemin dezavantajları değerlendirmelerin hasta başında yapılma zorluğu, değerlendirmeye kadar geçen sürede örneklerde buharlaşma meydana gelmesidir. Kimyasal işleme maruz kalan örneklerin başka incelemeye olanak vermemesi diğer bir olumsuz yönü oluşturmaktadır.[29]

b. Kâğıt şeritlerin tartılması

Genişliği/uzunluğu belli olan kağıt şeritlerin DOS örneklemesi öncesi ve sonrasında ağırlıkları hassas bir tartı vasıtasıyla tespit edilerek DOS miktarı hesaplanabilir.[7,11,43,68] Bu yöntemde çok küçük miktardaki DOS için hassas bir tartı aletinin gerekli oluşu ve buharlaşmanın DOS hacmini değiştirebilmesi bu yöntemin olumsuz kısımları olarak sayılabilir.[7,29]

c. Periotron aygıtı ile DOS hacminin belirlenmesi:

Periotron, DOS hacmini elektriksel olarak tespit eden bir cihazdır. Cihaz, elektriksel kapasitans değişimleri ile kâğıt şeritteki DOS miktarını belirler. Hızlı ve hassas bir tekniktir.[29] Literatür incelendiğinde gelişim dönemlerine göre üç farklı Periotron cihazının çalışmalarda kullanıldığı görülmüştür. Bunlar farklı üreticilerce imal edilen: HAR–600® (Harco Electronics Ltd., Winnepeg, Kanada),[14,69] Periotron 6000® (IDE Interstate, Amytville, N.J., ABD-Siemens Medical Systems Inc., Iselin, N.J, ABD-Harco Electronics Ltd., Winnepeg, Kanada) [50,58,61,70] ve Periotron 8000®'dir (Proflow Inc, Amityville, N.Y., ABD-Oraflow Inc, Plainview, N.Y, ABD).[48,49,71,72] DOS hacminin tayininde, Periotron cihazı kullanıldığında belli başlı durumlar uygulamayı etkileme potansiyeline sahiptir. Bunlar, cihaz kalibrasyonu ile ilgili hususlar, örneklemelerde kullanılan kağıt şeridin özellikleri ile cihaz ve örnekleme sahasına etki eden kontaminasyon, buharlaşma ile ısı ve nem gibi çevresel etmenlerdir.

Kalibrasyon; Periotron için, sıvıların bilinen hacimlerinin (hassas bir şırınga ile kağıt şeritlere

uygulanmasıyla) alete okutulup tanıtılması, bu işlem sonucunda bir kalibrasyon eğrisinin oluşturulması ve bu kalibrasyon eğrisi yardımıyla da DOS hacminin (Periotron ünitesi (PÜ) veya mikrolitre (µl) cinsinden) belirlenmesidir.[73,74] Kalibrasyon DOS hacmi ölçümlerinde kritik bir aşamadır. Bu aşamadaki eksikler veya hatalar küçük hacimlerde yüzde olarak ciddi ölçüm farklılıklarına ve hatalara neden olur. Her cihazın kalibrasyonunun farklı değer aralığında olduğu, her cihazın kendine has bir kalibrasyona ihtiyaç duyduğu, serumun kalibrasyon eğrisi oluşturma sürecinde en uygun sıvı olduğu ve kalibrasyon eğrisi oluşturulurken tekrarlayan hacimsel ölçümlere ihtiyaç duyulduğu bilinmelidir.[29] Cihazlar arasında PÜ'nün µl'ye çevrilmesinde yöntem bakımından farklılıklar mevcuttur. Periotron 6000® cihazında manuel formüllerden yararlanarak mevcut PÜ değeri µl'ye çevrilmektedir.[21] Bu durum çok küçük DOS hacimlerinde (≈ 0-10 PÜ) analiz sorunlarını beraberinde getirdiği rapor edilmiştir.[75] Periotron 8000® cihazında bu aşama bir bilgisayar programı vasıtasıyla gerçekleştirilmektedir.[73] Bazı çalışmalarda DOS hacimsel değişimlerinin mikrolitreye çevrilmediğini, sonuçların sadece PÜ cinsinden verildiği görülmektedir.[76-78]

Kalibrasyon esnasında kullanılan sıvılarında okuma değerleri üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Kalibrasyonda kullanılacak sıvının DOS ile benzer özelliklere sahip olması gerektiği,[73] insan serumunun mevcut özellikleri[7,29,73] nedeniyle kalibrasyonda tercih edilebileceği öne sürülmüştür.[73] HAR-600® Periotron modeliyle yapılan bir araştırmada, kalibrasyonda kulanılan distile suyun en yüksek, serumun ise en düşük okuma değerini ortaya koyduğu belirtilmiştir.[69] Yine sıvılardaki yüksek protein değerlerinin Periotron değerlerinde düşmeye neden olduğu bildirilmiştir.[73] Cihazlar arasında kalibrasyon eğrilerinin oluşturulmasında farklılıklar mevcuttur. Örneğin HAR-600® ile aynı üreticinin 6000® modeli ile yapılan karşılaştırmalı bir araştırmada, 6000 modelinin kalibrasyon eğrisinin küçük sıvı miktarlarında HAR 600®'e göre daha hassas olduğu belirlenmiştir.[79]

Cihaz kalibrasyonunun belli dönemlerde gözden geçirilmesi gerekmektedir. Bu konuda farklı uygulamalar mevcut olup, aygıtın her kullanım öncesinde kalibre edilmesi gerektiğini[53,80-82] veya hafta da bir kontrol edilip kalibrasyon eğrisinin tekrar elde edilmesi şeklinde[73,83] öneriler de mevcuttur. Öte yandan Periotron cihazının kullanıldığı ancak kalibrasyon konusunda ayrıntı vermeyen çalışmalara da rastlamak mümkündür.[77,84] Deinzer ve ark.[48] kalibrasyonda 5 PÜ'lik bir güvenlik aralığı uygulamasına gitmişlerdir. Bu yöntem uyarınca yeni örnekleme öncesi Periotron cihazının mevcut kalibrasyonu kontrol edilmekte, kalibrasyonun kontrol edilmesi maksadıyla okutulan değerlerde 5 PÜ'lik bir sapmada kalibrasyon yenilenmektedir.

Kalibrasyon eğrisinin oluşturulma sürecinde her µl için kullanılan sıvıların farklı sayıda örnekleri cihaza okutulduğu ve bunların ortalamalarının alındığı görülmüştür. Bu alanda kabul edilmiş herhangi bir standart bulunmamaktadır. Çalışmalarda bu amaçla 2 kez,[29] 3 kez,[30,74] 5 kez[48] veya 10 kez[85] tekrarlanan ölçümler söz konusudur. Tözüm ve ark.[71] kalibrasyon eğrisinin oluşturulmasında yaptıkları deneysel çalışmada 3, 5 ve 20'lik ölçüm serileri arasında belirgin bir fark tespit edememişlerdir.

Çalışmalar irdelendiğinde ideal kâğıt şerit tipi konusunda henüz bir uzlaşma sağlanamadığı görülmektedir. Çalışmalarda genellikle Whatman tipi filtre kâğıtları[74,86,87] veya ticari olarak üretilen boyutları ve emicilikleri standart olan kâğıt şeritlerin[17,37,50,88,89] kullanıldığı görülmektedir. Önemli olmasına rağmen bu konuya bazı çalışmalarda değinilmemiştir.[11,90]

Griffiths ve ark.[87] tarafından gerçekleştirilen ve Periotron 6000®' nin kullanıldığı bir çalışmada, değişik ebattaki kâğıt şeritler değerlendirilmiş olup ideal kâğıt şerit tipi ve boyutu tespit edilmeye çalışılmıştır. Çalışmada standart boyut ve emiciliğe sahip ticari olarak üretilmiş kâğıt şeritler ile Whatman 1, Whatman 3MM, Whatman 4 kromatografi kâğıtları ve boyut olarak ta 1x5 mm, 2x5 mm, 3x5 mm, 4x5 mm, 1x8 mm, 2x8

mm, 3x8 mm'lik boyutlar değerlendirilmiştir. Emicilik özellikleri göz önünde bulundurulduğunda, örnekleme için en uygun kâğıt türünün Whatman 3MM kromatografi kâğıdının olduğu, Periotron kutup çapları göz önünde bulundurulduğunda da en fazla absorban özelliği 2x8 mm'lik kâğıt şeridin sergilediği görülmüştür. Yine aynı çalışmada küçük hacimli örneklerde (<0,2 µl) kağıt tipleri arasında küçük farklılıkların izlendiği ortaya koyulurken, büyük hacimlerde özellikle emiciliği ve boyutları standart kağıt şeritler ile Whatman 3 MM kromatografi kağıtları arasında çok belirgin farklılıklar saptanmıştır.[87] DOS ölçümlerinde Periotron 8000® ile yapılan bir değerlendirilmede kağıt şeritlerin cihazdaki yerleşimlerinin standardize edilmesi gerektiği yönünde bir bilgide mevcuttur.[47,73] Suppipat ve Suppipat[69] HAR-600® cihazı ile yaptıkları değerlendirmede, kağıt şeritleri cihazda farklı yerleşimlerde (kutubun ortası, sağ ve sola yerleşimi) konumlandırmışlar ve bu konumlandırma ile sonuçlarda bir farklılık izlememişlerdir. Ancak aynı çalışmada eşit miktarda ıslatılmış kâğıt şeritlerin cihazda ¼, ½, ¾, veya tam olarak konumlandırılmaları ile okumalarda farklılıklar gözlemişlerdir.[69] DOS'nın kâğıt şeritlerden geri elde edilmesi hususunda farklılıklar mevcuttur. [29] Ticari olarak üretilen emiciliği ve boyutları standart olan kağıt şeritler ile polivinilidenden diflorid esaslı kağıt şeritler arasında Periotron 6000® cihazında protein geri kazanımının değerlendirilmesi maksadıyla yapılan değerlendirme neticesinde polivinilidenden diflorid esaslı kağıt şeritlerin daha düşük okuma değerleri ortaya koyduğu, küçük sıvı hacimlerinde doğru ölçümler yapmaya olanak vermeyebileceği gözlenmiştir.[88] Yapılan başka bir çalışmada Whatman #1 filtre kağıdı ile Whatman 3 kromatografi kağıtlarının ticari olarak üretilen emiciliği ve boyutları standart olan kağıt şeritlere nazaran farklı oranda protein geri kazanımı sağladığı belirtilmiştir.[91]

Kontaminasyon, sağlıklı verilerin elde edilmesinde sorun oluşturan bir durumdur. Supragingival plak, kan ve salya kontaminasyonu DOS'nın hacimsel değerlendirmelerini etkileyebilmektedir.[7] Supragingival plak varlığında tespit edilen DOS hacminin gerçek DOS hacmine göre (hatalı olarak!) artmış değerler ortaya koyduğu bildirilmiştir.[92] Dolaysıyla birçok çalışmada supragingival plağın dikkatlice uzaklaştırılmaya çalışıldığı görülmektedir. [49,63,93,94] Buna tezat olacak şekilde supragingival plak kontaminasyonunun DOS hacmi üzerine belirgin etkisinin olmadığını ileri süren literatür bilgisi de mevcuttur.[48] DOS hacmini ve içeriğini değiştirmemek düşüncesinden yola çıkılarak, kan kontaminasyonu olan kağıt şeritlerin değerlendirme dışında tutulduğunu belirten çok sayıda çalışmaya rastlamak mümkündür.[11,61,72,94,95] Ancak Griffiths[29] yapmış olduğu değerlendirmede, bunun ne oranda veya ne düzeyde gerçekleştirildiğini nadiren tarif edildiğini belirtmiştir. Salya kontaminasyonu açısından örnek alınacak bölgenin izolasyonu oldukça büyük bir önem arz etmektedir. Olası bir salya kontaminasyonunu önlemek açısından bölgedeki mevcut salyanın hava-su spreyi[30,35,48,96] ile kurutulduğu, çalışma alanlarının pamuk rulolar ile izole edilmeye çalışıldığı,[11,17,46,49,72,97] salya ejektörünün kullanıldığı[54,98] veya kurulama amacıyla pamuk peletlerin[93] kullanıldığı görülmektedir. Dişeti oluğunu etkilememek amacıyla hava-su spreyinin yönünün dişe dik ve 5 sn süreyle tutulduğu izlenmektedir.[48,99] Salya kontaminasyonunu azaltmak amacıyla örnekleme sahasının seçimine özen gösterildiği görülmektedir. Bu bakış açısı ile çalışmalar değerlendirildiğinde üst çene ön dişlerin bukkal yüzeylerinin kullanıldığı,[97] üst çene dişlerinin mezyobukkal yüzeylerinin kullanıldığı,[41] üst molar dişlerin palatal alanlarının bukkal yüzeylere tercih edildiği,[30] alt çenede bukkal/labiyal yüzeylerin lingual yüzeylere tercih edildiği izlenmektedir.[30] DOS örnek alımını kolaylaştırmak amacıyla bukkal, mezyal ve anterior alanların lingual, distal ve posterior alanlara üstün tutulduğu görülmektedir.[74]

Değerlendirmeleri etkileyecek bir kontaminasyon türü de, Periotron cihazında DOS örneklerinin okutulması sonrasında cihaz kutuplarında

meydana gelen kontaminasyondur. Tözüm ve ark.[71] Periotron 8000® cihazıyla yapmış oldukları deneysel çalışmanın sonuçlarına göre aygıtın kutuplarında kontaminasyon meydana gelebileceğini belirtmişlerdir. Literatürde kutuplar bölgesinden kaynaklanacak olası bir bulaşının olmaması için bazı çalışmalarda bu hususa dikkat edildiği ve kutupların her ölçüm sonrasında kurulandığı görülmektedir.[72,74,100] Bu amaçla kurulama öncesinde kutupların temizlenmesi için saf etanolün kullanıldığı izlenmektedir.[74]

DOS hacmini etkileyebilen diğer bir durumda, örnekleme sürecinde kâğıt şeritlerde meydana gelen buharlaşmadır. Buharlaşmaya bağlı olarak meydana gelen sıvı kaybı elde edilen örnekteki DOS'nın hacminin azalmasına neden olmaktadır. Bu durum özellikle hacmin az olduğu durumlarda önem kazanmaktadır. Zira buharlaşmanın olması DOS hacmi/içeriği acısından hatalı sonuçların ortaya çıkmasına zemin hazırlayabilmektedir.[86] Ortam sıcaklığının yüksek olması buharlaşmayı artırıcı bir etkendir.[101] Tözüm ve ark.[71] hazırladıkları deneysel düzenekte, kâğıt şeritlerdeki buharlaşmanın örnek transfer süresinin uzaması ile ortaya çıktığı (30–60 sn) ve bu durumun önemli hacimsel değişimlere neden olabileceğini göstermişlerdir.

HAR-600® Periotronu ile yapılan bir araştırmada yüksek oda ısısında nem sabit olduğunda düşük oda ısısına göre ölçüm değerlerinin daha yüksek olduğu, bunun küçük hacimlerde (0,1µl – 0,2 µl) önemli olabilecek bir fark yaratmadığı, ancak yüksek nemin sabit oda ısısında düşük neme göre okuma değerlerinde bir artışa neden olduğu gösterilmiştir.[69] Kaynaklarda bu durumun önüne geçilebilmesi için örneklemenin sabit nem ve oda sıcaklıklarında yapıldığı yönünde bilgiye rastlanılmaktadır.[47]

DOS örneklemesi üzerine etkili olabilen diğer faktörler

Dental Tedaviler

DOS ile ilgili çalışmalarda belirtildiği üzere çürüğü ve restorasyonu bulunmayan doğal diş grupların (eğer protetik-ortodontik vb. dental tedavilerin etkileri ele alınmayacaksa) çalışmalara dahil edildiği görülmektedir.[4,15,102] Bunun nedeni bu tarz etkenlerin DOS karakteristiğini etkileyebilme potansiyelidir. Örneğin bir araştırmada porselen laminate veneer kronların DOS miktarını artırabileceği gösterilmiştir.[103] Soğuk akrilikten hazırlanmış restorasyonlarda da benzer bir etki izlenmiştir.[104]

Konservatif dental tedavi işlemlerinin de DOS üzerinde benzer bir etkisi mevcuttur. Kompozit ile cam iyonomer simanın marjinal dişeti üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada restorasyonu bulunan dişlerde farklı ölçüm günlerinde DOS miktarı üzerinde önemli etkiler tespit edilmiştir.[105]

Ortodontik tedavi gören bireylerde DOS miktarının artma eğiliminde olduğu bildirilmektedir.[43] Pender ve ark.[106] ortodontik diş hareketi esnasında DOS'nın hacminin arttığı, ancak retansiyon esnasında DOS miktarında azalmanın izlendiğini belirtmişlerdir. Ortodontik tedavi gören bireylerde plak birikimine neden olabilecek birçok faktörün (braket, bandlar ve teller gibi) bulunması nedeniyle DOS'nda görülen hacim artışının tek basına ortodontik kuvvetlerden kaynaklandığını ileri sürmenin zor olduğu belirtilmiştir.[7]

Periodontal tedavinin DOS hacmi üzerinde etkisi incelendiğinde sıvı hacminin periodontal tedaviyi[16,107,108] takiben azaldığı görülmektedir. Literatür incelendiğinde DOS ölçümlerinin periodontal tedavinin belirli bir süre zarfı sonrasında gerçekleştirildiği görülmektedir. Amaç bu tedavinin olası etkilerinin çalışma sonuçlarına yansımamasıdır. Bu süre zarfı değişik periodontal tedaviler için değişken olup çalışmalarda genelde 3 ay,[25,42,72,89,98] 4 ay,[94,95] ve 6 ay[68,74,93,100] arasında değişmektedir.

Diş fırçalama ve sondalama

Dişlerin fırçalanması veya sert cisimlerin çiğnenmesinin DOS akışının artışına neden olabileceği bildirilmektedir.[7] Ölçümlerin etkilenmemesi açısından bu gibi minimal travma yapabilecek işlemlerin, örneklemeden 2 saat[96]-

12 saat öncesinde[59] gerçekleştirilmesi hususuna özen gösteren çalışmalar mevcuttur.

Periodontolojide teşhiste cep derinliğinin periodontal sonda ile ölçülmesinin önemi tartışmasız büyüktür. Bu tarz sondlamanın da minimal bir fiziksel bir irritasyon oluşturması ve DOS miktarını artırabileceği düşünülmektedir.[7] Literatürde bu tarz bir irritasyonun ve bunun DOS ölçümlerine yansımasının önüne geçilebilmesi maksadıyla, klinik ölçümlerin DOS ölçümlerinden 1 hafta öncesinde,[100,109] 1-2 hafta öncesinde[16] veya DOS örneklerinin elde edilmesi sonrasında[17, 43, 49, 84] yapıldığı görülmektedir.

Sigara kullanımı

Sigara kullanan bireylerde DOS miktarının etkilendiği bilinmektedir. Çalışmalar irdelendiğinde çalışma sonuçları acısından farklılıklar izlemek mümkündür. Sigara kullanan bireylerin kullanmayan bireylere göre daha düşük DOS miktarına sahip oldukları bildirilmektedir. [70] Ancak olası cinsiyet farklılıklarından kaynak alabilecek değişimlerin elimine edildiği diğer bir çalışmada, DOS hacminin artış gösterdiği ileri sürülmektedir.[110] McLaughlin ve ark.[81] sigara kullanan bireylerde DOS akışında geçici bir artış saptamışlardır. Periodontitisi bulunan erişkin hastalarda tedavi öncesinde yapılan bir diğer değerlendirmede sigara kullanan bireylerin DOS hacminin sigara kullanmayan bireylere göre daha düşük olduğu görülmüştür.[82] Bu gibi araştırma sonuçlarına göre, çalışma grubu oluşturulurken sigara kullanımının göz önünde tutulması doğru bir yaklaşım olacaktır.

İlaçlar

Antienflamatuvar ilaçların[23,111,112] ve antibiyotiklerin[21,37,86,113,] DOS hacmi ve içeriğini etkileyebildikleri gösterilmiştir. Yine oral kontraseptiflerin, DOS'a olası etkileri uzun süre önce tanımlanmıştır.[7] Araştırmalarda ilaçların dişetine olan olası etkisinden sakınmak amacıyla önlem alındığı görülmektedir. Çalışmaya dâhil edilme kriterlerinde sıklıkla bu tarz ilaçların kullanılmadığı bir süre zarfından bahsedilmektedir. Çalışmalara göre bu süre zarfı değişmekte, çalışmanın gerçekleştirilmesinin öncesinde, birey seçiminde genelde son 1 ay, [80] son 2 ay,[42] son 3 ay [21,25,102] ve son 6 ay [11,22,50,54,61,74,86,100] ilaç kullanılmadığına dikkat edildiği belirtilmektedir.

Sonuç

Dişeti oluğu sıvısı örneklemesi oldukça dikkat gerektiren ayrıntılı bir süreçtir. Bu süreç birçok faktörden etkilenmektedir. Bu sürecin başında yapılacak bir hata/eksiklik katlanarak ileri aşamalarda sonuçlara yansıyacaktır. Bu durum da verilerin yorumlanmasında ve diğer çalışmalar ile karşılaştırılması aşamasında zorluklara neden olacaktır. Kısmen veya tamamen kontrol edilebilir faktörlerin gözetilerek örneklemenin gerçekleştirilmesi, araştırmalardaki sonuçların karşılaştırılmasında, yorumun doğru yapılmasına ve ideale yakın örnekleme prosedürünün geliştirilmesine yardımcı olacaktır. Bu derlemenin bu açıdan bakıldığında araştırıcılara katkı sağlayacağı umulmaktadır.

Kaynaklar

1. Ebersole JL. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontol 2000* 2003; 31: 135-166.
2. Pöllänen MT, Salonen JI, Uitto VJ. Structure and function of the tooth-epithelial interface in health and disease. *Periodontol 2000* 2003; 31: 12-31.
3. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontol 2000* 2003; 31: 43–54.
4. Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000* 2003; 31: 55–76.
5. Bass BD, Andors L, Pierri LK, Pollock JJ. Quantitation of hepatitis B viral markers in a dental shool population. *J Am Dent Assoc* 1982; 104: 629-632.
6. Maticic M, Poljak M, Kramar B. et al. Proviral HIV–1 DNA in gingival crevicular fluid of HIV–1–infected patients in various stages of HIV disease. *J Dent Res* 2000; 79: 1496–1501.
7. Cimasoni G. Crevicular fluid updated. Monographs in Oral Science. 2nd Ed., Karger, İsviçre, 1983, 1-121.

8. Bartold PM, Narayanan AS. Gingival crevicular fluid: connective tissue elements as diagnostic markers. In: Barthold PM, Narayanan AS. Biology of the periodontal connective tissues. Quintessence Publishing Co., Illinois–USA, 1998, 223-240.
9. Fine DH, Mandel ID. Indicators of periodontal diseases activity: an evaluation. *J Clin Periodontol* 1986; 13: 533-546.
10. Eley BM, Cox SW. Bacterial proteases in gingival crevicular fluid before and after periodontal treatment. *Br Dent J* 1995; 178:133-139.
11. Özmeriç N, Bal B, Baloş K, Berker E, Bulut Ş. The correlation of gingival crevicular fluid interleukin–8 levels and periodontal status in localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1998; 69: 1299–1304.
12. Masada MP, Pearsson R, Kenney JS et al. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res* 1990; 25: 156-163.
13. Figueredo CMS, Ribeiro MSM, Fischer, RG, Gustafsson A. Increased interleukin-1 concentration in gingival crevicular fluid as a characteristic of periodontitis. *J Periodontol* 1999; 70: 1457–1463.
14. Tschuchida K, Hara K. Clinical significance of gingival fluid measurement by "Periotron". *J Periodontol* 1981; 52: 697–700.
15. Chapple ILC, Socransky SS, Dilbart S, Glenwright HD, Matthews JB. Chemiluminescent assay of alkaline phosphatase in human gingival crevicular fluid: investigations with an experimental gingivitis model and studies on source of the enzyme within crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 587-594.
16. Lamster IB, Oshrain RL, Gordon JM. Enzyme activity in human gingival crevicular fluid: considerations in data reporting based on analysis of individual crevicular sites. *J Clin Periodontol* 1986; 13: 799-804.
17. Smith QT, Au GS, Freese PL, Osborn JB, Stoltenberg JL. Five parameters of gingival crevicular fluid from eight surfaces in periodontal health and disease. *J Periodontal Res* 1992; 27: 466-475.
18. Sandholm L. Proteases and their inhibitors in chronic inflammatory periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1986; 13:19-26.
19. Schenkein HA, Genco RJ. Gingival fluid and serum in periodontal disease. I. Quantitative study of immunoglobulins, complement components and other plasma proteins. *J Periodontol* 1977; 48: 772-777.
20. Ebersole JL, Singer RE, Filloon T, Kornman KS. Inflammatory mediators and immunoglobulins in GCF from healthy, gingivitis, periodontitis sites. *J Periodontal Res* 1993; 28: 543-546.
21. Sakellari D, Goodson JM, Socransky SS, Kolokotronis A, Konstantinidis A. Concentration of 3 tetracyclines in plasma, gingival crevice fluid and saliva. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 53-60.
22. McLaughlin WS, Ball DE, Seymour RA, Kamali F, White K. The pharmacokinetics of phenytoin in gingival crevicular fluid and plasma in relation to gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 942-945.
23. Haesman PA, Ward A, Barrett W, Seymour RA, Edwards G. Flurbiprofen in human gingival crevicular fluid analyzed by high performance liquid chromatography. *J Periodontal Res* 1992; 25: 88-92.
24. Mombelli A, Marxer M, Gaberthuel T, Grunder U, Lang NP. The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1995; 22:124-130.
25. Boutros SM, Michalowicz BS, Smith QT, Aeppli DM. Crevicular fluid enzymes from endosseous dental implants and natural teeth. *Int J Ora. Maxillofac Implants* 1996; 11: 322-330.
26. Salcetti JM, Moriarty JD, Cooper LF at al. The clinical, microbial, and host response characteristics of the failing implant. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997; 12: 32–42.
27. Egelbert J. Cellular elements in gingival pocket fluid. *Acta Odont Scand* 1963; 21: 283-287.
28. Kaslick RS, Chasens AI, Weinstein D, Waldman R. Ultramicromethod for the collection of gingival fluid and quantitative analysis of its sodium content. *J Dent Res* 1968; 47: 1192.
29. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol 2000* 2003; 31: 32–42.
30. Haerian A, Adonogianaki E, Mooney J, Docherty JP, Kinane DF. Gingival crevicular stromelysin, collagenase and tissue inhibitor of metallo-proteinases levels in healthy and diseased sites. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 505–509.
31. Skapski H, Lehner T. A crevicular washing method for investigating immune components of crevicular fluid in man. *J Periodontal Res* 1976; 11: 19–24.

32. Challacombe SJ, Russell MW, Hawkes J. Passage of intact IgG from plasma to the oral cavity via crevicular fluid. *Clin Exp Immunol* 1978; 34: 417–22.

33. Oppenheim, FG. Preliminary observations on the presence and origin of serum albumin in human saliva. *Helv Odontol Acta* 1970; 14: 10–17.

34. Lindhe J, Attström R, Björn AL. Influence of sex hormones on gingival exudation in gingivitis-free female dogs. *J Periodontal Res 1968;* 3: 273–278.

35. Özkavaf A, Aras H, Huri CB et al. Analysis of factors that may affect the enzymatic profile of gingival crevicular fluid: Sampling technique, sequential sampling and mode of data presentation. *J Oral Sci* 2001; 43: 41-8.

36. Cao CF, Smith QT. Crevicular fluid myeloperoxidase at healthy, gingivitis and periodontitis sites. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 17-20.

37. Tenenbaum H, Jehl F, Gallion C, Dahan M. Amoxicilin and clavulanic acid concentrations in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 804-807.

38. Egelberg J, Attström R. Comparison between orifice and intracrevicular methods of sampling gingival fluid. *J Periodontal Res* 1973; 8: 384-8.

39. Jenkins GN. The physiology and biochemistry of the mouth, 4. ed, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1978, 284-345.

40. Lindhe J, Attström R. Gingival exudation during the menstrual cycle. *J Periodontal Res* 1967; 2: 194-198.

41. Tsai CC, Chen SL, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *J Periodontal Res* 2005; 40: 378-384.

42. Hancock EB, Cray J, O'Leary J. Relationship between gingival crevicular fluid and gingival inflammation: A clinical and histologic study. *J Periodontol* 1979; 50: 13-18.

43. Griffiths GS, Moulson AM, Petrie A, James IT. Evaluation of osteocalcin and pyridinium crosslinks of bone collagen as marker of bone turnover in gingival crevicular fluid during different stages of orthodontic treatment. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 492-498.

44. Oates TW, Graves DT, Cochran DL. Clinical, radiographic and biochemical assessment of IL–1/ TNF-α antagonist inhibition of bone loss in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 137–143.

45. Giannopolou C, Kamma JJ, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 145-153.

46. Mathur A, Michalowicz B, Castillo M, Aepli D. Interleukin-1 alpha, interleukin 8 and interferon-alpha levels in gingival crevicular fluid. *J Periodontal Res* 1996; 31: 489-495.

47. Hattingh J, Ho E. The concentration of proteins in human crevicular fluid. *J Periodontal Res* 1980; 15: 90-5.

48. Deinzer R, Mossanen BS, Herforth A. Methodological considerations in the assessment of gingival crevicular fluid volume. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 481-488.

49. Özkavaf A, Aras H, Huri CB, et al. Relationship between the quantity of gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. *J Oral Sci* 2000; 42: 231–238.

50. Smith QT, Geeagan SJ. Repeated measurement of gingival crevicular fluid parameters at different sites. *J Clin Periodontol* 1991; 18, 171–176.

51. Rudin HJ, Overdiek HF, Rateitschak KH. Correlation between sulcus fluid rate and clinical and histological inflammation of the marginal gingiva. *Helv Odontol Acta* 1970; 14: 21-26.

52. Shapiro L, Goldman H., Bloom A. Sulcular exudate flow in gingival inflammation. *J Periodontol* 1979; 50: 301-304.

53. Darany DG, Beck FM, Walters JD. The relationship of gingival crevicular fluid leukocyte elastase activity to gingival fluid flow rate. *J Periodontol* 1992; 63: 743-747.

54. Awawdeh LA, Ludy FT, Linden GJ, et al. Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene related peptide in gingival crevicular fluid associated with painful human teeth. *Eur J Oral Sci* 2002; 110: 185–94.

55. Kowashi Y, Jaccard F, Cimasoni G. Sulcular polymorphonuclear leucocytes and gingival exudate during experimental gingivitis in man. *J Periodontal Res* 1980; 15: 151-158.

56. Cox, SW, Eley BM. Detection of cathepsin B and L, elastase -,tryptase -, trypsin- and dipeptidyl peptidase IV-like activities in crevicular fluid from gingivitis and periodontitis patients with peptidyl derivates of 7-amino–4-trifluoromethyl coumarin. *J Periodontal Res* 1989; 24: 353-361.

57. Cox SW, Gazi MI, Eley BM. Dipeptidyl peptidase II and IV–like activities in gingival tissue and crevicular fluid from human periodontitis lesions. *Archs Oral Biol* 1992; 37: 167-173.

58. Villela B, Cogen RB, Bartolucci AA, Birkedal–Hansen H. Crevicular fluid collagenase activity in healthy, gingivitis, chronic adult periodontitis and localized juvenile periodontitis patients. *J Periodontal Res* 1989; 22: 209–211.

59. Borden SM, Golub M, Kleinberg I. The effect of age and sex on the relationship between crevicular fluid flow and gingival inflammation in humans. *J Periodontal Res* 1977; 12:160-65.

60. Orban JE, Stallard RE. Gingival crevicular fluid: A reliable predictor of gingival health? *J Periodontol* 1969; 40: 231-235.

61. Reinhardt RA, Masada MP, Kaldahl WB, et al. Gingival fluid IL-1 and IL-6 levels in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 225-231.

62. Griffiths GS, Sterne JAC, Wilton JMA, Eaton KA, Johnson NW. Associations between volume and flow rate of gingival crevicular fluid and clinical assessments of gingival inflammation in a population of British male adolescents, *J Clin Periodontol* 1992;19: 464-470.

63. Lamster IB, Harper DS, Goldstein S, Celenti RS, Oshrain RL. The effect of sequential sampling on crevicular fluid volume and enzyme activity. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 252-258.

64. Gangbar S, Overall C M, McCulloch CA, Sodek J. Identification of polymorphonuclear leukocyte collagenase and gelatinase activities in mouthrinse samples: correlation with periodontal disease activity in adult and juvenile periodontitis. *J Periodontal Res* 1990; 25: 257-267.

65. Yamaguchi M, Takada R, Kambe S, et al. Evaluation of time-course changes of gingival crevicular fluid glucose levels in diabetics. *Biomed Microdevices* 2005; 7: 53-58.

66. Sorensen SE, Larsen IB, Jörgensen KD. Gingival and alveolar bone reaction to marginal fit of subgingival crown margins. *Scand J Dent Res* 1986; 94: 109-114.

67. Weinstein E, Mandel I, Salkind A, Oshrain HI, Pappas GD. Studies of gingival fluid. *Periodontics* 1967; 5: 161–166.

68. Nakashima K, Roehrich N, Cimasoni G. Osteocalcin, prostaglandin E2 and alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid: their relations to periodontal status. *J Clin Periodontol* 1994; 21: 327-333.

69. Suppipat N, Suppipat N. Evaluation of an electronic device for gingival fluid quantitation. *J Periodontol* 1977; 48: 388-394.

70. Persson L, Bergström J, Gustafsson A, Åsman B. Tobacco smoking and gingival neutrophil activity in young adults. *J Clin Periodontol 1999*; 26: 9-13.

71. Tözüm TF, Hatipoğlu H, Yamalık N, et al. Critical steps in electronic volume quantification of gingival crevicular fluid: the potential impact of evaporation, fluid retention, local conditions and repeated measurements. *J Periodontal Res*. 2004; 39: 344-357.

72. Hatipoğlu H, Yamalık N, Berberoğlu A, Eratalay K. Impact of the distinct sampling area on volumetric features of gingival crevicular fluid. *J Periodontol* 2007; 78: 705-715.

73. Ciantar M, Caruana DJ. Periotron 8000: Calibration characteristics and reliability. *J Periodontal Res* 1998; 33: 259–264.

74. Pourthaghi N, Radvar M, Mooney J, Kinane DF. The effect of subgingival antimicrobial therapy on the levels of stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinases in gingival crevicular fluid. *J Periodontol* 1996; 67: 866-870.

75. Lamster IB, Oshrain RL, Fiorello LA, Celenti RS, Gordon JM. A comparison of 4 methods of data presentation for lysosomal enzyme activity in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 347-332.

76. Eberhard J, Heilmann F, Açil Y, Albers HK, Jepsen S. Local application of n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids in the treatment of human experimental gingivitis. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 364-369.

77. Eberhard J, Reimers N, Dommish H et al. The effect of topical administration of bioactive glass on inflammatory markers of human experimental gingivitis, *Biomaterials 2005;* 26: 1545-1551.

78. Jepsen S, Eberhard J, Fricke D. et al. Interleukin–1 gene polymorphisms and experimental gingivitis. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 102-106.

79. Van Der Bul P, Dreyer WP, Grobler SR. The periotron gingival crevicular fluid meter: an assessment of three different instruments. *J Periodontal Res* 1986; 21: 39-44.

80. Offenbacher S, Odle BM, Gray C, Van Dyke TE. Crevicular fluid prostaglandin E levels as a measure of the periodontal disease status of adult and juvenile periodontitis patients. *J Periodontal Res* 1984; 19: 1-13.

81. McLaughlin WS, Lovat FM, Macgregor IDM, Kelly PJ. The immediate effects of smoking on gingival fluid flow. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 448–51.

82. Apatzidou DA, Riggio MP, Kinane DF. Impact of smoking on the clinical microbiological parameters of adult patients with periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 973–983.

83. Ebersole JL, Taubman MA, Smith DJ, Goodson JM. Gingival crevicular fluid antibody to oral microorganisms. I. Method of collection and analysis of antibody. *J Periodontal Res* 1984; 19: 124–132.

84. Al-Shammari KF, Giannobile WV, Aldredge WA et al. Effect of non-surgical periodontal therapy on C-telopeptide pyrodinole cross-links (ICTP) and interleukin–1 levels. *J Periodontol* 2001; 72: 1045–1051.

85. Herrmann JM, Gonzales JR, Kleinsteuber A, Vonholdt J, Meyle J. Elastase activity in gingival crevicular fluid of healthy volunteers. *Int Poster J Dent Oral Med* 2001; 3: Poster 66. (http://ipj.quintessenz.de/index.php?content=issues&doc=poster&select=66 Erişim tarihi: 8 Kasım 2010).

86. Rotzetter PA, Le Liboux A, Pichard E, Cimasoni G. Kinetics of spiramycin/metronidazole (Rodogyl®) in human gingival crevicular fluid, saliva and blood. *J Clin Period*ontol 1994; 21: 595–600.

87. Griffiths GS, Curtis MA, Wilton JMA. Selection of a filter paper with optimum properties for the collection of gingival crevicular fluid. *J Periodontal Res* 1988; 23: 33–38.

88. Gustafson A. Methodological consideration in GCF sampling with paper strips: poor recovery of uncomplexed elastase. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 432–436.

89. Hatipoğlu H, Yamalık N, Kılınç A, et al. The Site-Specific Nature of the Volumetric Features and Enzymatic Profile of Gingival Crevicular Fluid (GCF): Analysis of Myeloperoxidase (MPO) Activity at Distinct Sampling Sites. *Int J Clin Dent* 2008; 1: 7-26.

90. Bozkurt FY, Berker E, Akkus S, Bulut S. Relationship between interleukin–6 levels in gingival crevicular fluid and periodontal status in patients with rheumatoid arthritis and adult periodontitis. *J Periodontol* 2000; 71: 1756–1760.

91. Johnson RB, Streckfus CF, Dai X, Tucci MA. Protein recovery from several paper types used to collect gingival crevicular fluid. *J Periodontal Res* 1999; 34: 283–289.

92. Stoller NH, Karras DC, Johnson LR. Reliability of crevicular fluid measurements taken in the presence of supragingival plaque. *J Periodontol* 1990; 61: 670–673.

93. Booth V, Young S, Cruchley A, Taichman NS, Paleolog E. Vascular endothelial growth factor in human periodontal disease. *J Periodontal Res* 1998; 33: 491-9.

94. Emingil G, Çınarcık S, Baylas H, Hüseyinov A. Levels of platelet activating factor in gingival crevicular fluid and gingival tissue in specific periodontal diseases. *J Periodontol* 2001; 72:1032-1037.

95. Emingil G, Çınarcık S, Baylas H, Çoker I, Hüseyinov A. Levels of Leukotriene B4 in gingival crevicular fluid and gingival tissue in specific periodontal diseases. *J Periodontol* 2001; 72: 1025-1031.

96. Konradsson K, Van Dijken JWA. Interleukin-1 levels in gingival crevicular fluid adjacent to restorations of calcium aluminate cement and resin composite. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 462-466.

97. Över C, Yamalık N, Yavuzyılmaz E, Ersoy F, Eratalay K. Myeloperoxidase activity in peripheral blood, neutrophil crevicular fluid and whole saliva of patients with periodontal disease. *J Nihon Univ Sch Dent* 1993; 35: 235-240.

98. Ciantar M, Spratt DA, Newman HN. Wilson M. Development of an in vitro microassay for glucose quantification in submicrolitre volumes of biological fluid. *J Periodontal Res* 2002; 37: 79-85.

99. Waschul B, Herforth A, Stiller-Winkler R, et al. Effects of plaque, psychological stress and gender on crevicular fluid IL-1b and IL-1 ra secretion. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 238-248.

100. Jin L, Söder B, Corbet F. Interleukin–8 and granulocyte elastase in gingival crevicular fluid in relation to periodontopathogens in untreated adult periodontitis. *J Periodontol* 2000; 71: 929-939.

101. Bickel M, Cimasoni G. The pH of human crevicular fluid measured by a new micro-analytical technique. *J Periodontal Res* 1985; 20: 35-40.

102. Gonzales JR, Herrmann JM, Boedeker RH et al. Concentration of interleukin-1 beta and neutrophil elastase activity in gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 544–549.

103. Kourkouta S. Walsh TF, Davis LG. The effect of porcelain laminate veneers on gingival health and bacterial plaque characteristics. *J Clin Periodontol* 1994; 21: 638-640.

104. Garvin PH, Malone WFP, Toto PD, Mazur B. Effect of self-curing acrylic resin treatment restorations on the crevicular fluid volume. *J Prosthet Dent* 1982; 47: 284-289.

105. van Dijken JW, Sjöström S. The effect of glass ionomer cement and composite resin fillings on marginal gingiva. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 200-203.

106. Pender N, Damuels RHA, Last KS. The monitoring of orthodontic tooth movement over a 2 year period by analysis of gingival crevicular fluid. *Eur J Orthodontics* 1994; 16: 511-520.

107. Buchmann R, Hasilik A, Van Dyke TE, Lange DE. Resolution of crevicular fluid leukocyte activity in patients treated for aggressive periodontal disease. *J Periodontol* 2002; 72: 995-1002.

108. Tüter G, Kurtiş B, Serdar M. Interleukin -1β and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase 1 periodontal therapy in patients with chronic periodontitis, *J Periodontol* 2001; 72: 883-888.

109. Jin L, Darveau RP. Soluble CD 14 levels in gingival crevicular fluid of subjects with untreated adult periodontitis. *J Periodontol* 2001; 72: 632-640.

110. Ustün K, Alptekin NO. The effect of tobacco smoking on gingival crevicular fluid volume. *Eur J Dent* 2007; 1: 236-239.

111. Sekino S, Ramberg P, Lindhe J. The effect of systemic administration of ibuprofen in the experimental gingivitis model. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 182–187.

112. Marsh PD, Bradshaw DJ. Physiological approaches to the control of oral biofilms. *Adv Dent Res* 1997; 11: 176-185.

113. Ho W, Eubank T, Leblebicioglu B, Marsh C, Walters J. Azithromycin decreases crevicular fluid volume and mediator content. *J Dent Res* 2010; 89: 831-835.

114. Burrell RC, Walters JD. Distribution of systemic clarithromycin to gingiva. *J Periodontol* 2008; 79: 1712–1718.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Hasan HATİPOĞLU
Dumlupınar Üniversitesi,
Sağlık Hizmetleri Eğitim Uygulama ve Araştırma Merkezi Hastanesi,
Diş Hekimliği Birimi/ Periodontoloji Merkez Kampus
KÜTAHYA
Tel : (274) 265 20 31 / 21 79
E-posta : periohasan@yahoo.de