



Ortodontik Müdahale Yapılan Osteoporozlu Ratlarda IL-1 β Seviyesi

The Level of IL-1 β In Orthodontically Treated Osteoporotic Rats



Yrd.Doç.Dr. Seher

GÜNDÜZ-ARSLAN*

Yrd.Doç.Dr. Filiz Acun

KAYA**

Doç.Dr. Hüseyin ARSLAN***

Dr. Can Ayhan KAYA****

Prof.Dr. Orhan HAMAMCI*

*Dicle Üniv. Dişhek. Fak. Ortodonti A.D., ** Dicle Üniv. Dişhek. Fak. Periodontoloji A.D., *** Dicle Üniv. Tıp Fak. Ortopedi ve Trav. A.D., ****Serbest Veteriner hekim, Diyarbakır / *Dicle Univ. Faculty of Dentistry Dept. of Orthodontics, **Dicle Univ. Faculty of Dentistry Dept. of Periodontology, ***Dicle Univ. Faculty of Medicine Dept. of Orthopedics and Traumatology, **** Private Veterinary Surgeon, Diyarbakır, Turkey

Yazışma adresi:

Corresponding Author:

Dr. Seher Gündüz-Arslan
Dicle Üniversitesi
Dişhekimliği Fakültesi
Ortodonti A.D. Diyarbakır
Tel: 0 412 2488001-3456
Faks: 0 412 2488100
E mail: agseher@hotmail.com

ÖZET

Osteoporozlu ratlarda ortodontik müdahale esnasında dişeti oluğu sıvısı (DOS) örneklerinde IL-1 β seviyesini değerlendirmektir.

33 adet erişkin dişi Sprague-Dawley rat 15 kontrol, 18 çalışma grubu olarak rasgele iki gruba ayrıldı. Çalışma grubundaki ratlara osteoporoz oluşturmak amacıyla bilateral ovariectomi yapıldı. Kontrol grubundakilere de sham operasyonu yapıldı. Operasyondan iki ay sonra ratların üst keserlerinin arasına bir açıcı zemberek 10 gr kuvvet uygulayacak şekilde aktive edilerek takıldı. Aktivasyonun hemen akabinde, 3., 7. ve 10. günlerinde apanyin uygulandığı dişlerin vestibül yüzlerinden dişeti oluğu sıvı örnekleri alındı. Sıvılar biyokimyasal analizlerden geçirildi. Sıvılardan elde edilen değerlerin istatistiksel analizi Anova testiyle yapıldı. Gruplar arası değişimlerin değerlendirilmesi ise Mann Whitney U testi ile yapıldı.

IL-1 β seviyesinin bütün gruplarda 3. ve 7. günlerde yüksek olduğu tespit edildi. Kontrol ve çalışma grubu karşılaştırmalarında ise çalışma günleri arasında her iki grubun karşılaştırmasında anlamlı farklılıklar vardı.

IL-1 β seviyesinin çalışma grubunda daha fazla olması, erişkin menapozlu hastalarda ortodontik tedavi kuvvetlerinin oldukça minimum düzeyde tutulmasını ve diğer bireylere oranla daha yavaş ortodonti yapılması gerekliliğini göstermektedir. (Türk Ortodonti Dergisi 2008;21:118-126)

Anahtar Kelimeler: Rat, menapoz, osteoporoz, ortodontik kuvvet, DOS.

SUMMARY

This study aims to evaluate the levels of IL-1 β , in samples taken from the gingival crevicular fluid (GFU) of osteoporotic rats during orthodontic treatment.

33 adult female Sprague-Dawley rats were divided into 2 groups. (15 control and 18 study group) In study group bilateral ovariectomy was carried out to create osteoporotic rats. And also in control group sham operation was carried out. Two months following the operation, an open coil spring applying 10g force, was placed actively between the upper incisors of the rats Shortly after activation, samples were taken from the gingival crevicular fluid from the vestibular surface of appliance fixed teeth on the 3rd, 7th and 10th days. Samples were analyzed biochemically. The statistical analysis of data acquired from the samples was carried out by using ANOVA test. The evaluation of the changes between the groups was carried out by using Mann Whitney U test.

It was observed that the level of IL-1 β were high on the 3rd and 7th in both groups. In the comparison of control and study groups there were significant differences between the working days. (Turkish J Orthod 2008;21:118-126)

Key Words: Rat, Menopause, osteoporosis, orthodontic force, IL-1 β , GFU.



GİRİŞ

Kemik durağan bir doku olmayıp hayat boyu devam eden bir yapım yıkım döngüsü içerisinde sürekli değişime uğrar (1). Bu döngüyü, birbiriyle sıkıca ilişkili iki süreç oluşturur. Bunlar osteoklastlarca yürütülen kemik yıkımı ve hemen ardından gelişen ve osteoblastlarca yürütülen kemik yapımıdır (2).

Osteoblastlar ve osteoklastlar kemik iliğinde bulunan hemopoetik progenitör hücrelerden ve mezenkimal stromal hücrelerden gelişir (3). Belirli sistemik hormonların yanı sıra, bazı sitokinler ve büyüme faktörleri bu hücrelerin oluşumunun düzenlenmesinde önemli rol oynayarak fizyolojik şartlarda kemikteki yapım yıkım döngüsünün parakrin olarak kontrol edilmesinde önemli rol alırlar (4).

Postmenopozal dönemin ilk dekadında azalan östrojen seviyeleri hızlı bir kemik kaybına ve fraktür riskinde artışlara yol açmaktadır (5) Östrojenin inflamatuvar sitokinlerin üretimi üzerindeki baskılayıcı etkisinin bu dönemde ortadan kalkması ile osteoklastogenezin ve sonuçta da kemik yıkımının hızlandığı birçok yazar tarafından belirtilmiştir (4,5,6).

Ortodontik diş hareketinin başlangıcı, periodontal vazodilatasyonla beraber kapillerden lökositlerin çıkışıyla karakterize akut enflamatuvar bir olaydır. Sitokinler, mononükleer hücrelerden salınan yerel biyokimyasal mediatörler olup, doğrudan yada dolaylı olarak kemik hücrelerini etkilemektedir (7). Günümüzde bilinen ellinin üzerinde sitokin vardır. Bunlar arasında interlökinler, interferonlar, kemotaktik faktörler, tümör nekrozis faktörler, koloni uyarıcı faktörler ve büyüme faktörleri sayılabilir. Bu sayılan sitokinlerin hepsi fibroblastlar ve osteoblastlardan olduğu gibi, lökositlerden de kaynaklanabilir. İn vitro olarak yapılan çalışmalarda, bu sitokinlerden özellikle interlökin 1 β ve 1 β (IL-1 β ve IL-1 β), IL-2, tümör nekrozis faktör- β (TNF- β) ve interferon gamma'nın (IFN- β) kemik yıkımında önemli rol oynadıkları gösterilmiştir(8). İnterlökin-1, bir monosit/makrofaj ürünü olup, fibroblastların çoğalmalarına, kemik yıkımına ve kıkırdak dokuların küçülmesine sebep olur. IL-1, sinovyal hücrelerden, fibroblastlardan ve diğer bir çok hücrelerden prostaglandinlerin (PG) ve kollajenazların salınımına sebep olurken

INTRODUCTION

Bone is not a static tissue and permanently undergoes a series of changes within framework of a cycle composed of construction and destruction (1). This cycle is constituted by 2 closely associated processes: Bone resorption led by osteoclasts and bone formation performed by osteoblasts taking place just after the destruction (2).

Osteoblasts and osteoclasts develop from mesenchymal stromal cells and hematopoietic progenitor cells located in bone marrow (3). Alongside certain systemic hormones, several cytokines and growth factors play a significant role in regulation of the formation of those cells, and contribute to the paracrine management of the resorption-formation cycle in physiological settings (4).

Estrogen levels which drop during the first decade of postmenopausal period, lead to a rapid bone loss and an elevation in fracture risk (5). Acceleration of osteoclastogenesis resulting in bone destruction due to removal of the influence of estrogen over synthesis of inflammatory cytokines, has been mentioned by many authors (4,5,6).

The beginning of the orthodontic tooth movement is an acute inflammatory event characterized by release of leukocytes from capillaries. Cytokines are local biochemical mediators, which are released from mononuclear cells, and directly or indirectly have an effect over bone cells (7). Currently, there are more than 50 known cytokines. Interleukins, interferons, chemotactic factors, tumor necrosis factors, colony stimulating factors, and growth factors may be mentioned among those. All of those cytokines can originate from leukocytes as well as fibroblasts and osteoblasts. Particularly interleukin 1 β and 1 β (IL-1 β and IL-1 β), IL-2, tumor necrosis factor- β (TNF- β), and interferon gamma (IFN- β) have been shown to have a significant role on bone resorption (8). Interleukin-1 is a product of monocyte/macrophage and causes increase in number of fibroblasts, bone destruction, and a decrease in the sizes of cartilage tissues. While IL-1 leads to the release of prostaglandins (PG) and collagenases from synovial cells, fibroblasts, and many other cells; stimulates neutrophil secretion, as well.



aynı zamanda nötrofil sekresyonunu uyarır. Yapılan çalışmalarda kronik periodontitisli hastaların cep sıvılarında; sağlıklı olan bireylere göre daha yüksek oranda IL-1 bulunmuştur (7,8).

Daha önce östrojen eksikliğinin olduğu ratlarda yapılan çalışmalarda ortodontik kuvvet uygulanması sonucunda osteoporozlu modellerde diş hareketlerinin daha hızlı ve miktarının daha fazla olduğu bildirilmiştir(9,10).

Bu çalışmanın amacı, overektomi yapılarak osteoporoz oluşturulmuş ratlarda uygulanan ortodontik kuvvet sonrasında dişeti cep sıvılarından alınan örneklerde IL-1β seviyesini değerlendirmektir.

GEREÇLER ve YÖNTEM

Otuzüç adet erişkin dişi Sprague-Dawley rat 15 kontrol, 18 çalışma grubu olarak rasgele iki gruba ayrıldı. Çalışma grubundaki ratlara osteoporoz oluşturmak amacıyla bilateral overektomi yapıldı. Kontrol grubundakilere de sham operasyonu yapıldı. Operasyondan iki ay sonra ratların üst keserlerinin arasına bir açıcı zemberek 10 gr kuvvet uygulayacak şekilde aktive edilerek takıldı. Aktivasyonun hemen akabinde, 3., 7. ve 10. günlerinde apareyin uygulandığı dişlerin vestibül yüzlerinden vestibül yüzeylerinden dişeti oluğu sıvısı örnekleri (DOS) elde edildi (Resim 1). DOS örnekleri özel olarak üretilen kağıt şeritler (periopaper®) yardımıyla Rudin et. al. (11) yöntemi kullanılarak elde edildi. Örnekleme materyalinin salya ile kontaminasyonunu önlemek için işlem üst çenede vestibül yüzeyleri ile sınırlandırıldı. Kağıt şeritler bir presel yardımıyla sulkus girişine yerleştirildi. 30 saniye bekletildikten sonra kağıt şeritlerin hassas terazide ölçümü yapıldı ve steril eppendorf tüplerine yerleştirildi. Tüpler analiz edilene kadar -20 °C saklandı. Örnekleme sırasında kanama oluşturulmamasına özen gösterildi, oluşan durumlarda ise örnekler çalışma kapsamı dışında bırakıldı. Analizden hemen önce 1000 ml steril NaCl (9mg/ml) kağıt şeritlere ilave edildi ve DOS 3000 g'de 20 dk +5 °C'de santrifüj edilerek ayrıştırıldı (12).

Sıvılardan elde edilen değerlerin istatistiksel analizi Anova testiyle yapıldı. Gruplar arası değişimlerin değerlendirilmesi ise Mann Whitney U testi ile yapıldı.

According to the studies, IL-1 level has been found to be higher in gingival crevicular fluids (GCF) of patients with chronic periodontitis compared to those of healthy individuals.

By former studies performed on rats with estrogen deficiency, tooth movements have been reported to be more rapid and at higher amounts after application of orthodontic force in osteoporosis models (9,10).

The aim of this study was to evaluate the gingival crevicular fluids obtained after application of orthodontic force on rats with induced-osteoporosis established by ovariectomy.

MATERIALS and METHOD

33 mature female Sprague-Dawley rats were randomly divided into 2 groups (15 control and 18 study group). Bilateral ovariectomy was performed on rats of the study group in order to induce osteoporosis. Sham operation was applied to the control group. Two months following the operation, an open coil spring applying 10g force, was placed actively between the upper incisors of the rats. Just after the activation, GCF samples were obtained from vestibule surfaces of the device-applied rats on 3rd, 7th, and 10th days (Figure 1). GCF samples were obtained by the help of specially manufactured paper strips through usage of Rudin et al. (11) method. The procedure was limited by the vestibule surfaces of upper jaw in order to prevent contamination of sample material with saliva. Paper strips were placed into the opening of the sulcus with tweezers. After waiting 30 seconds, paper strips were measured at a precision balance and placed into sterile Eppendorf tubes. Tubes were stored at -20 °C until analyzed. During sampling, bleeding was tried to be avoided, however, samples which shown bleeding despite precautions, were excluded from the study. Just before the analysis, 1000 ml steril NaCl (9mg/ml) was added to the paper strips and GCF was centrifuged and separated at 3000g for 20min. at +5 °C (12).

Statistical analysis of the values obtained from fluids, was carried out by Anova test. Mann Whitney U test was applied for assessment of changes between groups.



BULGULAR

IL-1 β seviyesinin her iki grupta araştırma günleri arasındaki farklılığı karşılaştırmak için uygulanan Anova testinde günler arası farklılık $P < 0.001$ düzeyinde anlamlı bulundu. Bu farklılığın hangi günlerden kaynaklandığını tespit amacıyla her iki gruba da Tukey HSD analizi yapıldı (Tablo1).

Tukey HSD analizi sonuçlarına göre; kontrol grubunun başlangıç ve 3. günleri arasındaki IL-1 β seviyesinde 19.39 (SD =3.93) artış vardı. 3. ve 7. günleri arasında 9.87 (SD =1.74) bir azalma, 7. ve 10. günleri arasında 6.55 (SD =3.86)'lık bir azalma ve başlangıç ve 10. gün arasındaki karşılaştırmada ise 1.97 (SD =21.98)'lik bir farkla 10.gün seviyesi biraz yüksekti.

Başlangıç -3.gün, 3.gün-7. gün arasındaki değişiklikler sırasıyla $p < 0.01$ ve $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı değişiklikler görülürken, 7. ve 10. günler ile başlangıç ve izleme gününün son gününde ki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik tespit edilemedi.

Tukey HSD analizi sonuçlarına göre; çalışma grubunun başlangıç ve 3. günleri arasındaki IL-1 β seviyesinde 38.16 (SD =4.60) artış vardı. 3. ve 7. günleri arasında 17.70 (SD =5.60) bir azalma, 7. ve 10. günleri arasında 12.52 (SD =4.64) lık bir azalma ve başlangıç ve 10. gün arasındaki karşılaştırmada ise 8.05 (SD =4.02) lik bir farkla 10. gün seviyesi değeri yüksekti.

Başlangıç -3.gün, 3.gün-7. gün arasında $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı değişiklikler görülürken, 7. ve 10. günler ile başlangıç ve izleme gününün son gününde ki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik tespit edilemedi.

Çalışma ve kontrol gruplarının araştırma günleri bazında yapılan karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi sonuçlarına göre (Tab-



Şekil 1: Dişeti oluğu sıvı örneklerinin alınması.

Figure 1: Sampling of gingival crevicular fluid.

RESULTS

Anova test was applied to compare the IL-1 β level difference between study days in both of the groups and eventually, the difference between days was found to be significant ($p < 0.001$). In order to find the day causing this difference, Tukey HSD analysis was performed in both of the groups (Table 1).

According to the results of the Tukey HSD, control group was showing an increase (19.39, SD =3.93) regarding the IL-1 β level between the 1st and 3rd days. While there was a decrease (9.87, SD =1.74) in IL-1 β levels between 3rd and 7th days, again there was a drop between 7th and 10th days (6.55, SD =3.86), moreover, the comparison of 1st and 10th days in terms of IL-1 β levels showed the value of 10th day mildly higher (1.97, SD =21.98). Whereas differences between 1st and 3rd day and between 3rd day and 7th day, were found to be significant ($p < 0.01$ and $p < 0.05$, respectively), there was no statistically significant difference between 7th and 10th days or between initial and 10th days.

According to the results of the Tukey HSD analysis, study group was exhibiting an increase (38.16, SD =4.60) in IL-1 β level between 1st and 3rd days of the study. While there

IL-1 β	0-3.gün / days		3-7 gün / days		7-10 gün / days		0-10 gün / days	
	Ortalama Fark \pm SD / Mean Difference \pm SD (Pg/ml)	P	Ortalama Fark \pm SD / Mean Difference \pm SD (Pg/ml)	P	Ortalama Fark \pm SD / Mean Difference \pm SD (Pg/ml)	P	Ortalama Fark \pm SD / Mean Difference \pm SD (Pg/ml)	P
Kontrol / Control	-19.39 \pm 3.93	**	9.87 \pm 1.74	*	6.55 \pm 3.86	NS	1.97 \pm 1.98	NS
Çalışma / Study	-38.16 \pm 4.60	**	17.70 \pm 5.60	**	12.52 \pm 4.64	NS	8.05 \pm 4.02	NS

Kısaltmalar: Sd:Standart deviasyon, P: önem düzeyi, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$, NS: anlamsız
Abbreviations: Sd: Standart deviation P:significance level,** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, NS: not significant

Tablo I: Her bir gruba ait araştırma günleri arasındaki farklılıklar ve Tukey HSD testi sonuçları.

Table I: Differences between the study days for each group and the results of Tukey HSD test.



Tablo II: IL-1 β seviyesinin çalışma ve kontrol gruplarının araştırma günlerine göre tanımlayıcı istatistikleri ve karşılaştırılmaları (Mann-Whitney U Testi sonuçları)

Table II: The descriptive statistics and comparisons of IL-1 β level between study and control groups with regards to study days .

IL-1 β	Çalışma / Study		Kontrol / Control		Çalışma vs. Kontrol / Study vs. Control
	Ortalama / Mean (Pg/ml)	SD	Ortalama / Mean (Pg/ml)	SD	P
Başlangıçlar/Beginning	23,86	11,83	8,80	5,73	***
3. gün/ 3 rd day	62,03	29,53	28,20	11,83	**
7. gün / 7 th day	44,33	15,20	17,33	9,90	***
10. gün/ 10 th day	31,92	11,51	10,78	5,99	***

Kısaltmalar: Sd:Standart deviasyon, P: önem düzeyi, **: p<0.01, ***: p<0.001
Abbreviations: Sd :Standart deviation,P:significance level **:p<0.01, *** :p<0.001

lo 2), başlangıç günlerinin karşılaştırılmasında p<0.001 düzeyinde, 3. günlerin karşılaştırılmasında p<0.01 düzeyinde, 7. ve 10. günlerin kendi aralarında karşılaştırılmasında ise p<0.001 düzeyinde anlamlı farklılık görülmüştür.

TARTIŞMA

İnsanlarda biyolojik olarak aktif maddelerin ekspresyonunu non-invazif olarak izlemek için, ortodontik ve ortopedik diş hareketleri esnasında gingival krevikular sıvı (GCF) muhteviyatındaki değişimler incelenmektedir. Kemik remodelling sürecindeki maddelerin periodontal ligament (PDL) tarafından sentezlendiği düşünülmektedir (13-19).

Bu çalışmada seçtiğimiz dişeti oluğu sıvısından (DOS) örnek toplama yöntemi daha çok insanlarda kullanılan bir yöntemdi. Ancak daha öncede dişeti oluğu sıvısıyla ilgili farklı rat çalışmaları yapılmıştı (20,21).

İnterlökin-1 (IL-1) iki formda görülür: IL-1alfa ve IL-1beta. İnterlökin- 1 β (IL-1 β) primer olarak hastalık şartları dışında dolaşımda yada vücut sıvılarından sıkça rastlanmaz(22).

İnterlökin-1 β (IL-1 β) ise kemik rezorpsiyonu ve kemik oluşumunun inhibisyonu açısından daha yüksek potansiyele sahiptir ve ortodontik diş hareketindeki rolü geçmişteki pek çok araştırmanın odak noktası olmuştur. Bu kapsamda, IL-1 β ölçülmemiştir.

Sitokinler ve enzimler gibi biyolojik olarak aktif maddeler, periodontiumdaki hücreler tarafından ortodontik apareylerin meydana getirdiği strese karşılık eksprese edilir. Pek çok araştırmanın esas amacı, mekanik stresi sellüler yanıtı çeviren ve diş hareketine sebep olan mekanizmaların açıklanmasıdır (23,24).

Ortodontik diş hareketiyle yapılan hay-

was a decrease (17.70, SD =5.60) between 3rd - 7th days regarding IL-1 β level, we determined again a decrease (12.52, SD =4.64) between 7th-10th days, and an increase (8.05, SD =4.02) between 1st – 10th days of the study. Whereas, the differences between 1st - 3rd days and 3rd – 7th days were significant (p<0.001), the differences between 7th – 10th days and 1st – 10th days were not statistically significant.

As a result of the Mann Whitney U test based on comparison of the study days between control and study groups, significant differences were found for 1st, 3rd, 7th, and 10th days (p<0.001, p<0.01, p<0.001, p<0.001, respectively).

DISCUSSION

By examining changes in gingival crevicular fluid (GCF) content during orthodontic and orthopedic tooth movements in humans, expression of biologically active substances could be monitored non-invasively. Substances involved in bone remodelling process are believed to be produced by periodontal ligament (PDL) (13,19).

In the present study, the method we chose for sampling from GCF, was a technique applied mostly on humans. However, there have been various studies about GCF on rats (20,21).

Interleukin-1 (IL-1) has 2 forms: IL-1 α and IL-1 β . Normally, except presence of a disease, primarily interleukin-1 β (IL-1 β) does not often appear in circulation or body fluids (22). However, interleukin--1 β (IL-1 β) bear a higher potential for inhibition of bone resorption and formation. Many investigators have been focused on its role over orthodontic tooth movement. IL-1 β has not been measured within that framework. Biologically active



van çalışmalarında PDL de İnterlökin-1 β seviyelerinde artış olduğu tespit edilmiştir(25-26).

Daha önceki bir çalışmada ratlarda interlökin döngüsünün 10 kadar sürdüğü bildirilmiştir(26). Bizde bu nedenle araştırma periodunu 10 gün olarak belirledik.

Östrojen eksikliğinin erken evresi boyunca kemik kaybı meydana gelir ve artmış kemik turnover ile birlikte. Bu fenomen ratlarda, maymunlarda ve insanlarda biyokimyasal ve radyografik birçok çalışmada gösterilmiştir(27-31).

Kemik yıkımının fazla olduğu menapozlu hastalarda dişeti oluşunda alınan sıvı örneklerinde IL-1 β seviyesinin östrojen eksikliği olmayan bayanlara göre çok fazla farklı olduğu menapozlu kadınlarda yapılan bir çalışmada tespit edilmiştir(33).

Postmenapozal dönemde östrojen azalmasının ve artmış kemik turnoverinin ortodontik tedavinin şeklini ve sonuçlarını etkilemektedir(9,10,32).

Bizde kemik yıkımının fazla olduğu osteoporozlu erişkin ratlarda ortodontik kuvvet oluşturarak dişeti oluşu sıvılarındaki IL β seviyelerini 10 günlük dönemde tespit etmek ve menapoz oluşturulmamış ancak sham operasyonu yapılmış erişkin ratlarla karşılaştırmak istedik.

Çalışmamızda hem çalışma hemde kontrol gruplarında ortodontik hareket uygulanmasının 3. gününde interlökin IL β seviyelerinde hızlı bir artış görülmüştü. Daha önce yapılan rat çalışmaları 3. günde ilk hareketin başladığı bildirilmiştir(9,10). Daha sonra bu artış 7. ve 10. günlerde bir azalma ile kendini göstermişti. Bu durum daha önce yapılan rat çalışmalarıyla uyumlu idi (26,34).

King ve ark. yaptıkları çalışmada, kemik döngüsünü, erken dönem kemik rezorpsiyonu (3-5 gün), bunun tersine çevrimi (5-7 gün), ve geç dönem kemik birikimini (7-14 gün) şeklinde tanımlamışlardır(35).

Her iki grupta da diş hareketinin etkisiyle 3. günde hızlı bir şekilde artan IL β seviyeleri daha azalma eğilimi gösterdi. Ancak IL β seviyelerindeki azalma miktarının daha geç ve yavaş olduğunu gözledik. Bu bulgu osteoklastik aktivitenin çalışma grubunda daha fazla olmasını ve diş hareketlerinin daha hızlı olmasını açıklamaktadır.

substances such as cytokines and enzymes, are expressed by the periodontal cells against the stresses inflicted by orthodontic devices. The main target of many studies have been explanation of the mechanism which convert mechanical stress to cellular response and lead to tooth movement (23,24).

Animal studies with orthodontic tooth movement have showed increases of interleukin-1 β levels in PDL (25,26). A previous study reported the duration of interleukin cycle in rats as approximately 10 days (26). Therefore, we limited our study period with 10 days.

During early period of estrogen deficiency, bone loss occurs alongside elevated bone turnover. This phenomenon has been shown by biochemical and radiographic studies on rats, monkeys, and humans (27-31).

In patients with menopause who exhibit excessive bone resorption, IL-1 β levels in fluid samples obtained from GCF, have been shown to be higher than those of women with no estrogen deficiency (33).

Estrogen drop and increased bone turnover during postmenopausal period, influence the type and results of the treatment (9,10,32).

We aimed to induce orthodontic force on mature rats with high bone resorption and determine the IL β levels in GCF samples for a 10-day period and then compare those results with the results of mature rats which have been exposed to a sham operation.

In the present study, IL β levels showed a rapid increase both in control and study groups 3 days after applying orthodontic force. The beginning of the first movement has been mentioned to be the 3rd day followed by decreases on 7th and 10th days in former studies on rats (9,10). Our study was consistent with the former studies (26,34).

King et al., described bone cycle in 3 periods: early period bone resorption (3-5 days), reversal of this (5-7 days), and late period bone formation (7-14 days) (35).

IL β levels exhibiting a rapid increase on 3rd day in both of the groups of our study due to influence of tooth movement, then tended to decrease. However, we observed the amount of decrease in IL β levels as slo-



Araştırma günlerinin kendi içinde karşılaştırılmasında ise osteoporozlu ratların IL β seviyelerinin kontrol grubuna oranla daha fazla olduğu görülmüştür. Zaten önceki rat çalışmaları da osteoporozlu ratlardaki diş hareket hızı ve miktarının kontrol gruplarına göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdi. Bu durum osteoporozlu ratlarda kemik inorganik matriksinin kontrol grubuna göre daha az yoğun olmasına bağlanmaktadır. Cesnjaj ve arkadaşları(27) östrojenin osteoindüktif etkisini araştırdıkları çalışmalarında ovariektomili ratlarda osteogenezin azaldığını ve kondrogenezin geciktiğini tespit etmişlerdir. Aynı yazarlar bu sonucu östrojen eksikliğinin muhtemelen osteogenin ve kemik morfogenetik protein gibi osteoindüktif proteinlerin üretimini değiştirdiği ve bu yolla kemik matriks oluşumunu bozduğu hipoteziyle açıklamışlardır. Bu mekanizma östrojen eksikliğinin yeni kemik oluşumunun erken dönemine etkisini açıklar. Etki mekanizmasıyla ilgili ikinci görüşe göre östrojen eksikliğinin yeni kemik oluşumunu olumsuz yönde etkilemesinin yanında, kemik turnoverinin artmasının, mevcut kemikte olduğu gibi yeni oluşan kemik dokusunda da osteoporoz oluşturacağı ve buna bağlı olarak daha dayanıksız yeni kemik oluşacağıdır. Kubo ve arkadaşları (36) bu mekanizmayla kemik iyileşmesinin geç dönemini olumsuz etkileyeceğini savunmaktadırlar. Ancak Walsh ve arkadaşları (37) yaptıkları biyomekanik çalışmada ovariektomili ratlarda yeni kemiğin daha dayanıksız olduğunun ancak bu farkın Kubo ve arkadaşlarının (37) bulgularının aksine geç dönemde azaldığını ve kontrol grubuna yakınlaştığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da 10. günde çalışma grubunun IL β seviyesi başlangıca göre hala yüksekti. Buda östrojen eksikliği olan ratlarda kemik yapımının daha geç oluştuğunun göstergesiydi. Yani kemik turnoveri önceki belirtilen çalışmadan (35) daha uzundu.

Bunun yanında araştırma günleri arasındaki interlökin IL β seviye farkı çalışma grubunda daha fazla idi. Buda ovariektomili ratlarda rezorpsiyonun daha fazla olduğunun göstergesiydi.

wer and more retarded. This result explains the higher level of osteoclastic activity in study group and the rapid nature of the tooth movements.

The comparison of study days within their group showed higher IL β levels in rats with osteoporosis compared to the control group. In other words, our study was consistent with the previous studies which had shown higher tooth movement rate and amount in rats with osteoporosis. This result is explained by less dense nature of bone inorganic matrix in rats with osteoporosis compared to those of controls. Cesnjaj et al.(27), found decrease of osteogenesis and retarded chondrogenesis in ovariectomized rats in their study investigating the osteoinductive effect of estrogen. Same authors explained this result by influence of estrogen deficiency possibly causing changes in synthesis of osteoinductive proteins such as osteogenin and bone morphogenetic protein, leading to disruption of bone matrix formation.

This mechanism explains the effect of estrogen deficiency on early period of new bone formation. According to the second opinion on mechanism of action, estrogen deficiency has a negative effect over new bone formation, and increases in bone turnover cause osteoporosis in both present and future bones leading to more instable and weaker bone formation. Kubo et al. (36), asserted that this mechanism would affect late period of bone healing negatively. However, Walsh et al.(37), showed weaker nature of new bones on ovariectomized rats, but contrary to Kubo et al., in the late period they determined a decrease in this difference which started to exhibit an approach to the value of control group. Similarly, in the present study, IL β levels of the study group were still higher than the initial value on the 10th day. That was an evidence of slow and retarded bone formation in rats with estrogen deficiency. In other words, bone turnover was longer than the aforementioned study (35). Moreover, difference between IL β levels of study days, was higher in the study group, which was and indicator of higher amounts of resorption in ovariectomized rats.



SONUÇ

IL-1 β seviyesinin çalışma grubunda daha fazla olması, rezorbsiyon miktarının bu modellerde daha fazla olduğunun göstergesidir. Buda erişkin menopozlu hastalarda ortodontik tedavi kuvvetlerinin oldukça minimum düzeyde tutulmasını ve diğer bireylere oranla daha yavaş ortodonti yapılması gerekliliğini göstermektedir. Ancak bu düşüncenin doğruluğu klinik çalışmalarla da desteklenmelidir.

CONCLUSION

Higher IL-1 β levels among the study group, indicates a higher amount of resorption in those models. And this finding suggests that we should keep orthodontic treatment forces at minimal levels and apply a slower orthodontic process in patients experiencing menopause. However, certainly this conclusion needs clinical verification, as well.

KAYNAKLAR/REFERENCES

- 1- Kutlu M. Kemik dokusu ve fizyolojisi. In: Candeğer Yılmaz editor. Osteoporoz. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 1997; 5-29.
- 2- Mc de Vernejoul. Bone structure and function. In: Geusens P editor. Osteoporosis in Clinical Practice. London: Springer, 1998;1-5.
- 3- Martin TJ, Suda T. Molecular and cellular mechanisms of bone loss. In: Papapoulos SE., Lips P, Pols HAP, Johnston CC, Delmas PD editors. In: Osteoporosis 96. Amsterdam: Elsevier, 1996; 3-7.
- 4- Riggs BL, Spelsberg TC. Mechanisms of estrogen action on bone cells. In: Papapoulos SE., Lips P, Pols HAP, Johnston CC, Delmas PD editors. In: Osteoporosis 96. Amsterdam: Elsevier, 1996; 241-250.
- 5- Sunyer T, Lewis J, Collin-Osdoby P. Estrogen's bone-protective effects may involve differential IL-1 receptor regulation in human osteoclast-like cells. J Clin Invest 1999; 15; 103(10): 1409-18.
- 6- Nilas L, Gottfredsen A, Hadberg A, Christiansen C. Age related bone loss in women evaluated by the single and dual photon technique Bone Miner 1988;4:95-103.
- 7- Davidovitch Z, Nicolay OF, Ngan PW, Shanfield JL. Neurotransmitters, Cytokines And The Control Of Alveolar Bone Remodeling In Orthodontics. Dent Clin North Am, 1988;32:411-435.
- 8- Grieve WG, 3rd Johnson GK, Moore RN, Reinhardt RA, DuBois LM. Prostaglandin E (PGE) and Interleukin-1 β (IL-1 β) Levels In Gingival Crevicular Fluid During Human Orthodontic Tooth Movement. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 1994;105:369-374.
- 9- Yamashiro T, Takano-Yamamoto T. Influences of ovariectomy on experimental tooth movement in the rat. J Dent Res 2001;80:1858-61.
- 10- Arslan SG, Arslan H, Ketani A, Hamamcı O. Effects of estrogen deficiency on tooth movement after force application: an experimental study in ovariectomized rats. Acta Odontol Scand. 2007;65(6),319-23.
- 11- Rudin HJ, Overdick HF, Rateitschack KH. Correlations between Sulcus Fluid Rate and Clinical and Histological Inflammation of the Marginal Gingiva: Helv. Odont Acta 1970;14:21-26.
- 12- Rasmussen L, Hänström L, Lerner UH. Characterization of bone resorbing activity in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis. J Clin Periodontol 2000; 27:41-52.
- 13- Last, K.S., Donkin, C., Emberg, G., Glycosaminoglycans in human gingival crevicular fluid during orthodontic movement. Arch. Oral Biol. 1988; 33, 907-912.
- 14- Sorsa T, Ingman T, Mikkonen T, Suomalainen K, Golub LM, Thesleft, I. Characterization of interstitial collagenase in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement in man. In: Davidovitch, Z.(Ed.), The Biological Mechanisms of Tooth Movement and Craniofacial Adaptation. The Ohio State University College of Dentistry, Columbus, OH, 1992; pp. 47-51.
- 15- Samuels RHA, Pender N, Last KS. The effects of orthodontic tooth movement on the glycosaminoglycan components of gingival crevicular fluid. J. Clin. Periodontol. 1993;20, 371-377.
- 16- Grieve, W.G., Johnson, G.K., Moore, R.N., Reinhardt, R.A., DuBois, L.M. Prostaglandin E (PGE) and interleukin-1 β (IL-1 β) levels in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 1994; 105, 369-374.
- 17- Insoft M, King GJ, Keeling SD, The measurement of acid and alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 1996; 109, 287-296.
- 18- Uematsu S, Mogi M, Deguchi T. a. Interleukin (IL)1 β , IL-6, tumor necrosis factor- α , epidermal growth factor, and b2 -microglobulin levels are elevated in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. J. Dental Res. 1996; 75, 562-567.
- 19- Uematsu S, Mogi M, Deguchi T. b. Increase of transforming growth factor-b1 in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. Arch. Oral Biol. 1996;41, 1091-1095.
- 20- Norway arli V. Heyeraas KJ. Effect of venous stasis and hypoproteinemia in gingival. fluid formation in rats. J Periodont Res 1995; 30: 231-237.
- 21- Fjaertoft M, Johannessen A C, Heyeraas K J. Micropuncture measurements of interstitial fluid pressure in normal and inflamed gingiva in rats. J Periodontal Res. 1992;Sep ;27:534-8 .
- 22- Lonnemann G, Endres S, Van der Meer JW, Cannon JG, Koch KM, Dinarello CA. Differences in the synthesis and kinetics of release of interleukin 1 α , interleukin 1 β and tumor necrosis factor from human mononuclear cells. Eur J Immunol. 1989 ;19, 1531-1536.
- 23- Sandy JR, Farnsdale RW, Meikle MC. Recent advances in understanding mechanically induced bone remodeling and their relevance to orthodontic theory and practice. Am J Orthod Dentofacial Orthop,1993; 103, 212-222.
- 24- Hill PA, Bone remodelling. Br. J. Orthodontics 1998;25,101-107.
- 25- Saito M, Saito S, Ngan PW, Shanfield J, Davidovitch Z,



- Interleukin-1 β and prostaglandin E are involved in the response of periodontal cells to mechanical stress in vivo and in vitro. *Am. J. Orthod Dentofacial Orthop.* 1991;99, 226–240.
- 26- Alhashimi N, Frithiof L, Brudvik P, Bakhtiet M. Orthodontictooth movement and de novo synthesis of proinflammatory cytokines. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2001; 119:307–312.
- 27- Cesnjaj M, Stavljenic A, Vukicevic S. Decreased osteoinductive potential of bone matrix from ovariectomized rats. *Acta Orthop Scand* 1991;62:471-5.
- 28- Whyte MP, Bergfeld MA, Murphy WA, Avioli LV, Teitelbaum SL. Postmenopausal osteoporosis. A heterogenous disorder as assessed by histomorphometric analysis of iliac crest bone from untreated patients. *Am J Med* 1982;72:193-202.
- 29- Parfitt AM, Mathews CHE, Villanueva AR, Kleerekoper M, Frame B, Rao DS. Relationships between surface, volume, and thicknes of iliac bone in aging and osteoporosis. Implication for the microanatomic and cellular mechanisms of bone loss. *J Clin Invest* 1983;72:1396-409.
- 30- Yamazaki I, Yamaguchi H. Characteristics of an ovariectomized osteopenic rat model. *J Bone Miner Res* 1989; 4:13-22.
- 31- Kalu DN, Liu CC, Hardin RR, Hollis BW. The aged rat model of ovarian hormone deficiency bone loss. *Endocrinology* 1989;124:7-16.
- 32- Miyajima K, Nagahara K, Lizuka T. Orthodontic treatment for a patient after menopause. *Angle Orthod* 1996;66(3):173-8.
- 33- Reinhardt RA, Masada MP, Payne JB, Allison AC and DuBois LM. Gingival Fluid IL-1Beta and IL-6 Levels in Menopause. *J. Clin. Periodontol.* 1994;21:22-25.
- 34- Jager A, Zhang D, Kawarizadeh A et al. Soluble cytokine receptor treatment in experimental orthodontic tooth movement in the rat. *Eur J Orthod.* 2005;27:1-11.
- 35- King GJ, Keeling SD, Wronski TJ. Histomorphometric study of alveolar bone turnover in orthodontic tooth movement. *Bone.* 1991;12:401–409.
- 36- Kubo T, Shiga T, Hashimoto J, Yoshioka M and at al. Osteoporosis influences the late period of fracture healing in a rat model prepared by ovariectomy and low calcium diet. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1999;68:197-202.
- 37- Walsh WR, Sherman P, Howlett CR, Sonnabend DH, Ehrlich MG. Fracture healing in a rat osteopenia model. *Clin Orthop* 1997;342:218-227.