

TETRASİKLİNLERİN ANTIENZİMATİK ÖZELLİKLERİNİN PERİODONTAL TEDAVİDEKİ YERİ

İrfan Cebeci¹ Özen Tuncer² Korkud Demirel³ Hasan Meriç²

Yayın kuruluna teslim tarihi : 19.12.1994

Yayma kabul tarihi : 18.07.1995

Özet

Günümüzde tetrasiklinler ve türevleri antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra antienzimatik özellikleri ile de dikkat çekmektedirler. Tetrasiklin molekülünde yapılan kimyasal değişiklikler sayesinde antimikrobiyal özellik taşımayan ancak doku kaynaklı kollajenaz enziminin aktivitesini baskılayabilecek analoglar hazırlanabilmektedir. Aynı etki tetrasiklinin düşük doz uygulamalarında da gözlenebilmektedir. Bu etki sayesinde periodontal hastalıkta doku yıkımında rol oynayan biyokimyasal mekanizmaların belirli aşamaları kontrol altında tutularak uygulanan geleneksel periodontal tedavi yaklaşımlarının etkinliği artırılabilir.

Anahtar sözcükler: Tetrasiklin, matriks metalloproteinaz, periodontal tedavi.

GİRİŞ

1980'lerde Golub ve ark (13,14) tetrasiklinlerin antimikrobiyal olmayan yeni bir antienzimatik özelliğini belirlemişlerdir. Tetrasiklinler bu özelliği ile nötrofiller, makrofajlar, osteoblastlar, tümör hücreleri, kondrositler gibi hücreler ile deri, dişeti, kornea, kıkırdak ile romatoid synovium gibi çeşitli dokulardan kaynaklanan kollajenazların aktivitelerini baskılayabilmektedirler (13,14,17,18,53).

Tetrasiklinlerin antienzimatik özelliklerinin daha iyi anlaşılabilmesi için bağ dokusu metabolizmasının bazı özelliklerinin ve periodontal hastalığın patogenezinin kısaca gözden geçirilmesi gerekmektedir. Bağ dokusu hücreler ve hücrelerarası madde olmak üzere iki bölümde incelenebilir. Fibroblast, osteoblast, kondrosit gibi hücreler ile kollajen yapısında olan ve olmayan proteinler gibi hücrelerarası maddenin değişik molekü-

ANTIENZYMATIC PROPERTIES OF TETRACYCLINES: POTENTIAL NEW APPROACHES IN THE TREATMENT OF PERIODONTAL DISEASE

Abstract

Tetracyclines and its derivatives are being popular with their antienzymatic properties besides their antimicrobial effects. Chemical modifications of the tetracycline molecule enabled to develop tetracycline analogs capable of inhibiting tissue originated collagenase without exhibiting antimicrobial properties. Similar phenomena have been observed with low dose application of tetracycline. These properties would alter the biochemical tissue distnction cascade leading to more efficient response to conventional periodontal therapy.

Key words: Tetracycline, matrix metalloproteinase, periodontal therapy.

ler yapıları bir bütünlük oluştururlar (20,24,27,28, 49). Hücrelerarası maddenin ana yapısal proteini olan kollajenler kendi aralarında gerek işlevsel gerekse yapısal farklılıklar göstermekte ve memeli dokularında 14 farklı kollajen tipinin olduğu belirtilmektedir (28,29,51). Periodontal hastalığın patogenezinde kollajen yıkımının meydana gelbilmesi için çeşitli matriks metalloproteinaz (MMP)'larından biri olan kollajenazın aktivasyonunun gerçekleşebilmesi gerekmektedir (Tablo 1) (32). Doku kaynaklı hücreler ile iltihapsal hücrelerden salgılanan MMP'ları bağ dokusunun hücreler arası maddesinin yıkımında rol oynarlar (1,3,21,23,44,45). MMP'larının bazı ortak özellikleri şunlardır: a) Olgunlaşmamış öncül şekilleri (prokollajenaz, projelatinaz v.b.) ana hücreden salgılandıktan sonra hücre dışı bölgede aktive olurlar, b) Aktif bölgede çinko katyonu içerirler, c) Çinko ve kalsiyum şelasyonu yapan ajanlar (1,10-fenantrolin ve EDTA gibi) tarafından baskılanırlar, d)

1 Dt İÜ Diş Hek Fak Periodontoloji Anabilim Dalı

2 Prof Dr İÜ Diş Hek Fak Periodontoloji Anabilim Dalı

3 Dr İÜ Diş Hek Fak Periodontoloji Anabilim Dalı

Tablo : 1 Matriks metalloproteinazlarının sınıflandırması (32).

Enzim	İsimlendirme	Matriks Substratı
<i>Doku kaynaklı kollajenazlar</i>		
Fibroblast kaynaklı kollajenaz	MMP-1	Kollajen 1, II, III, VII, VIII, X ve Jelatin
PMN kaynaklı kollajenaz	MMP-8	MMP-1 ile aynı
<i>Jelatinazlar</i>		
72 kDa	MMP-2	Jelatin, kollajen IV, V, VII, X, XI, elastin, fibronektin
92 kDa	MMP-9	Jelatin, kollajen IV, V, elastin
Stromelisin-1	MMP-3	Proteoglikan çekirdek proteini, fibronektin, kollajen IV, V, IX, X, elastin
Stromelisin-2	MMP-10	MMP-3 ile aynı
PUMP-1	MMP-7	Fibronektin, laminin, kollajen IV, Jelatin, prokollajenaz, proteoglikan çekirdek proteini

Metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP-1 gibi) tarafından baskılanırlar, e) Bağ dokusu hücreler arası maddesinin bir veya daha fazla içeriğini yıkıma uğrattırlar (kollajen gibi), f) MMP ile kollajenazın cDNA dizilimli homolog özellikler gösterirler.

TETRASİKLİNLERİN ANTIENZİMATİK ÖZELLİKLERİ

Ramamurdiy ve ark. (33,35,36) diabetli sıçanlar üzerinde yaptıkları ilk çalışmada diabetli sıçanların diabetli olmayan kontrollere göre dişeti ile derilerinde artmış düzeylerde kollajenaz aktivitesi gözlediklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu durumun doğrudan diabet nedeniyle mi, yoksa hiperglisemi sonucu subgingival plak mikroorganizmalarının artışına mı bağlı olduğunu belirleyebilmek için sistemik tetrasiklin uyguladıkları germ-free sıçanlar ile yeni bir deneysel model oluşturmuşlardır. Bu modelin kullanıldığı önemli bir çalışmada, minosiklin tedavisinin diabetli deneklerden elde edilen örneklerde dişeti kollajenaz aktivitesini in vitro olarak % 70 oranında düşürdüğü saptanmıştır (13). Ayrıca, minosiklinin kan ve dişeti olduğu sıvısı farmakolojik düzeylerine eşdeğer olan 5-20 mU konsantrasyonları ile sıçan polimorfonükleer lökosit (PMN)'lerinden elde edilen kollajenaz enziminin inkübasyonunun kollajenaz aktivitesini doğ-

rudan baskıladığını gözlemlemişlerdir. Ortama Ca+2 veya Zn+2 eklenmesi ile tetrasiklinin kollajenaz aktivitesindeki baskısının ortadan kalkması, ilacın enzimdeki metal iyonlarına bağlanarak bu metalloproteinazın aktivitesini baskıladığını düşündürmüştür (6,13,17,37). Bu çalışmaların ışığı altında araştırmacılar "tetrasiklinlerin antibakteriyel özelliklerine bağlı olmayan bir mekanizma ile ekstrasellüler kollajenazı baskılayabilecekleri, bu niteliklerinin periodontal hastalık gibi kollajen doku yıkımına neden olan çeşitli hastalıkların tedavisine yeni bir bakış açısı getirebileceği" görüşünü öne sürmüşlerdir.

Günümüze kadar yapılan araştırmalarda çeşitli farmakolojik ajanların (fenitoin, retinoik asit gibi) yukarıda açıklanan MMP'lerin aktivitelerini azalttıkları gösterilmiş olmakla birlikte (2,5), bu farmakolojik ajanların hiçbirisinin kollajenaz aktivitesinin modülasyonunda tedavi amacıyla kullanımlarının uygun olduğu kanıtlanamamıştır.

Çeşitli MMP'lerin tetrasiklinlere olan duyarlılıkları farklılıklar göstermektedir. Duyarlılığın mekanizmasını açıklamaya yönelik yanıt bekleyen önemli bir konu da tetrasiklinlerin enzim aktivasyonunu hangi aşamada etkilediğinin belirlenebilmesidir. Bu konuda yapılan çalışmalar ilginç sonuçlar ortaya koymaktadır. Örneğin sıçan osteoblastik osteosarkoma 17/2,8 jelatinazının

aktivasyonunun tetrasiklin ile baskılanmadığı, fakat klonal UMR 106-01 sıçan osteoblastik jelatinazının ilaca duyarlı olduğu bildirilmiştir (52). İnsan polimorfonükleer nötrofil kollajenazı (MMP 8) tetrasiklinin baskılayıcı etkisine insan fibroblast kollajenazı (MMP 1)'ndan daha duyarlıdır (25,44). Periodontitislerde (hernekadar lokalize juvenil periodontitisinde durum böyle değilse de) doku yıkımına neden olan kollajenazın ana kaynağını daha çok polimorfonükleer nötrofiller oluştururlar. Fibroblastlardan açığa çıkan kollajenaz ise bağ dokusunun yeniden şekillenmesinde (remodelling) öncelikli rol oynar (42,43,46,48). Polimorfonükleer ve fibroblast kollajenazlarının tetrasikline gösterdikleri farklı düzeydeki duyarlılıkları, kollajen devinimini etkilemeden, sadece MMP-8'in seçici olarak baskılanması ile iltihap sırasındaki kollajenolitik aktivitenin ve doku yıkımının azalmasını sağlayacağından tedavi amacı ile kullanılabilir yararlı bir özellik olarak değerlendirilebilir (39,44). Diğer bir deyişle, tetrasiklinin farklı kaynaklardan ortaya çıkan kollajenazları seçici olarak baskılama yeteneği sayesinde, dokunun fizyolojik devinimini etkilemeden patolojisi kontrol altında tutulabilir.

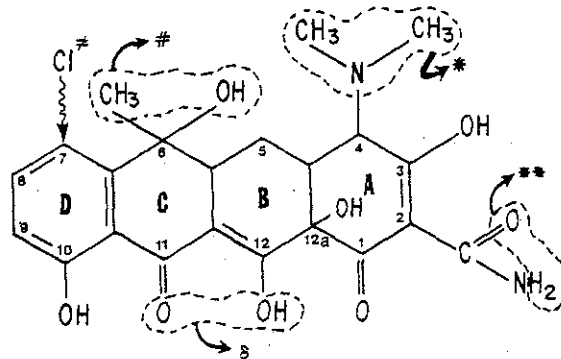
Ekstrasellüler kollajenazı baskılama özellikleri yönünden tetrasiklin ailesinin üyelerinin farklılıklar gösterdikleri bilinmektedir. Yarı sentetik tetrasiklinler olan doksisisiklin ile minosiklin, tetrasiklin-HCl'e göre daha çok etkilidirler (11,12,14). Tavşan korneasından elde edilen saflaştırılmış kollajenazın kullanıldığı çalışmalarda, enzim (MMP) aktivitesinin % 50'sini (IC50) baskılayan konsantrasyonu sırasıyla, doksisisiklin için 15uM, minosiklin için 190 uM ve tetrasiklin için ise 350 uM olacak şekilde bildirilmiştir (6). Doksisisiklinin bu güçlü etkinliğinin, enzimin aktif bölgesindeki çinko katyonlarına ilacın daha güçlü olarak bağlanması sonucunda meydana gelebileceği öne sürülmüştür.

KİMYASAL OLARAK MODİFİYE EDİLMİŞ TETRASİKLİNLER

Tetrasiklinin antibakteriyel etkisini açığa çıkarmayan düşük doz uygulamaları sayesinde ilacın antienzimatik özelliğinin antibakteriyel etkinliğine bağlı olmayan bir mekanizma ile enzim aktivasyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Araştırmacılar tetrasiklinin antienzimatik etkinlik gösteren bölümünü veya bölümlerini belirleyebilmek için tetrasiklinin ana moleküler yapısında kimyasal tekniklerle bazı değişiklikler yapmışlardır. Bu yolla elde edilen tetrasiklinler, kimyasal olarak

modifiye edilmiş tetrasiklin (KMT) 'ler olarak adlandırılmışlar (Şekil 1) (11,38). Tetrasiklinlerin kimyasal yapısında değişiklik yapma fikri ilk olarak 1957 yılında gündeme gelmesine karşın (31), günümüzde Golub ve ark. tarafından tetrasiklinin altı farklı analogu geliştirilmiştir (11). Bu altı analogun hepsinin ortak özelliği antimikrobiyal etkinliklerinin olmamasıdır. KMT'lerinin kullanıldığı in vivo ve in vitro çalışmaların sonucunda, ilginç bir şekilde yalnızca KMT-5'in kollajenaz aktivitesini baskılamadığı gözlenmiştir (11). KMT-5 tetrasiklin molekülünün B halkasındaki 12 numaralı karbondan hidroksil grubu ile 11 numaralı karbondan karbonil oksijenin uzaklaştırılması sonucunda, antibiyotik bir pirazol türevine dönüştürülmesi ile elde edilmiştir. Bu nedenle araştırmacılar C-11'deki karbonil ile C-12'deki hidroksilin antikollajenaz etkinliğinin gerçekleşebilmesi için gerekli olabileceğini öne sürmüşlerdir. Aynı zamanda bu bölgeler fizyolojik pH'da katyon bağlanması için gerekli olabilirler (17). Yine bilindiği gibi bütün kollajenazlar hidrolitik aktivitelerini gerçekleştirebilmek için çinko ve kalsiyum katyonlarına gereksinim duymaktadırlar (9,19,23,50). KMT'ler henüz deney aşamasındadırlar. İnsanlarda kullanılabilmesi için bu konuda yapılacak yeni çalışmalara gereksinim vardır.

Şekil 1. Tetrasiklin (TS) molekülünde 5 farklı analog oluşturmak için yapılan kimyasal değişikliklerin açık formülü (11).



Tetrasiklin (TS) Analogları

- * KMT-1 (4-dedimetilamino TS)
- ** KMT-2 (TS nitril)
- #* KMT-3 (6-demetil 6-deoksi 4-dedimetilamino TS)
- ≠* KMT-4 (7-kloro 4-dedimetilamino TS)
- § KMT-5 (pirazol)

Sözü edilen kimyasal ajanların ve tedavi yaklaşımlarının periodontal hastalığın tedavisindeki etkinliklerinin incelenebilmesi için çeşitli hayvan modelleri ile insanlarda çok sayıda araştırmalar yapılmıştır. İnsanlar üzerinde yapılan araştırmalar yasal sınırlamalar nedeniyle daha çok düşük doz doksisisiklin uygulamalarına yönelmiştir. Konu ile ilgili gerçekleştirilen araştırmalar, hayvan ve insan çalışmaları olmak üzere iki ana başlık altında incelenebilir.

HAYVAN ÇALIŞMALARI

Tetrasiklinler ile KMT'lerin periodontal hastalıkta etkinliklerinin değerlendirilebilmesi amacıyla üç farklı hayvan modeli kullanılmıştır. Bu çalışmaların sonuçları genel olarak kemik kaybının ve kollajenaz aktivitesinin azaldığını göstermiştir. Çalışmaların diğer önemli bazı sonuçları ise şu şekilde özetlenebilir :

1. Cerrahi olarak desalive edilen sıçanlara günlük KMT-6 uygulaması sonucunda sıçanlarda gözlenen alveol kemiği kaybı baskılanmıştır (41).

2. Osaka Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde yetiştirilen sıçanlarda, streptozozin ile diabetes mellitus oluşturulmasının, sıçanlarda doğal olarak gelişen dişeti hastalığının şiddetini arttığı bildirilmiştir. Aynı sıçanlarda ağız yoluyla KMT-1 veya tetrasiklin HCl'ün günlük olarak uygulanması sonucunda, varolan dişeti hastalığının şiddeti ile aşırı artmış kollajenaz aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir (47). Ramamurthy ve ark. tetrasiklin-HCl uygulanan sıçanlarda mikrobiyal direnç meydana geldiğini, fakat bu durumun KMT-1 uygulanan grupta gözlenmediğini bildirmişlerdir (34).

3. P. gingivalis ile seçici olarak monoenfekte edilen sıçanlarda enfekte edilmeyen kontrollere göre kollajenaz aktivitesi ile alveol kemiği kaybı açısından anlamlı bir artış gözlemlendiği bildirilmiştir (8). KMT-1 ile doksisisiklinin 8 hafta süreyle ağız yoluyla günlük olarak uygulanmaları ile sıçanların dişeti kollajenaz aktivitesi ve alveol kemiği kaybında anlamlı bir azalma meydana geldiği ve KMT-1'in antimikrobiyal etkisi olmadığı bildirilmiştir (7).

İNSAN ÇALIŞMALARI

Tetrasiklinlerin antikollajenaz özelliklerini incelemek amacıyla gerçekleştirilen ilk çalışmalarda, periodontitisli bireylerin dişeti oluğu sıvısı (DOS) kollajenaz enziminin tetrasiklin uygulamasına verdiği yanıt değerlendirilmiştir

(13,14,15,16). Daha sonraki çalışmalarda periodontal cerrahi sırasında elde edilen hastalıkli dişeti dokusunda yer alan ve doku yıkımında rol oynayan memeli kollajenazlarının tetrasiklin uygulamasına verdiği yanıt da değerlendirilmiştir (18). Golub ve ark. bu amaçla diabeti olan ve diabeti olmayan erişkin periodontitisli bireylere düzenli dozlarda çeşitli tetrasiklinleri (minosiklin, doksisisiklin, tetrasiklin-HCl) vermişlerdir. Araştırmacılar hastalara uyguladıkları bu tipteki tedavi rejiminin hastaların periodontal hastalık nedeniyle periodontal cep sınırlarında gözlenen aşırı artmış kollajenaz aktivitesini azalttığını bildirmişlerdir (13,16). Lipofilik semisentetik tetrasiklinler olan minosiklin ve doksisisiklinin tetrasiklin-HCl'e göre DOS kollajenaz enziminin aktivitesini daha etkin bir şekilde azalttığı belirlenmiştir. Tetrasiklinlerin antimikrobiyal özelliklerinin memeli kollajenaz aktivitesinin azalması ile (dolaylı yoldan) ilişkili olabileceği ve yapılan son çalışmalarda (4,10,12) araştırmacılar piyasada ticari olarak hazır bulunan 100 mg/hk doksisisiklinin % 20'si (ağız yoluyla günde 2 kez 20 mg) gibi az bir miktarını içeren özel olarak hazırlanmış kapsüllerin uygulanmasının denendiği çalışmalara yönelmişlerdir. Bu düşük doz doksisisiklin rejimi ile erişkin periodontitisli bireylerde hastalık dişeti dokusu ve DOS'nda artan kollajenaz aktivitesi, tetrasikline dirençli mikroorganizmaların meydana gelmesine neden olmadan anlamlı bir şekilde baskılanmıştır. İlacın antibakteriyal etkisi düşük doz uygulaması nedeniyle görülmemekte ve mikroorganizmalarda direnç oluşumu engellenmektedir.

Periodontal tedavide yararlanılabilecek böyle bir antikollajenaz yaklaşımının klinik uygulamaları ile ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır. Orta şiddette erişkin periodontitisi olan hastalara düşük doz doksisisiklin kapsüllerinin 2 hafta süreyle verilmesinin, hastalardan cerrahi işlem sırasında elde edilen dişeti dokusu ve DOS kollajenaz aktivitesini azalttığı, Golub ve ark. tarafından bildirilmiştir (10). Düşük doz doksisisiklinin "dönüşümlü rejiminin" (ilk 3 ayda günde 2 kez 20 mg. ikinci 3 ay boyunca ilaçsız, üçüncü 3 ay boyunca ilk üç ayın rejimi) kullanıldığı ikinci bir çift-körlü çalışmada erişkin periodontitisli bireylerde ataşman kaybının meydana gelmesi engellenmiştir (4). Düşük doz doksisisiklinin 3 aylık protokolünün kullanıldığı diğer bir çalışmada Schroeder ve ark. (40) ataşman kaybı açısından benzer yararlı sonuçlar elde ettiklerini ve bu hastaların subgingival plaklarında antibiyotiğe dirençli mikroorganizmaların meydana gelmediğini bildirmişlerdir.

Lee ve ark (26) tekrarlayan (inatçı) periodontitisi olan hastalarda doksisisiklin kapsüllerinin düzenli dozlarda uygulanan 3 haftalık rejiminin hastalarda tedavinin durdurulmasından sonraki 7 ay boyunca ataşman kaybını azalttığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada klinik olarak bir düzelme gözlenmiş olmasına rağmen kollajenaz enzim aktivitesinin çalışma süresinin sonunda bile hala yüksek değerlerde olduğu belirtilmiştir. Antikollajenaz etkinliğin gözlenmemesinin nedeni açıklanmamış olmakla birlikte, bu durumun DOS kollajenazını ölçmede kullanılan teknikteki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülebilir.

McCulloch ve ark (30) tekrarlayan (inatçı) periodontitisli bireyler üzerinde yaptıkları ve hastalığın nüksünün önlenmesinde plasebo ve doksisisiklinin (100 mg / gün) etkinliğini sınadıkları çalışmalarında doksisisiklin grubunda hastalık tekrarının önlenemediğini bildirmişlerdir. Hastaların aktif bölgelerinden elde ettikleri mikrobiyolojik örnekler için doksisisiklinin minimum baskılayıcı (inhibitör) konsantrasyonlarının, DOS konsantrasyonlarına göre 5-10 kat yüksek olması nedeni ile ilacın etkinliğinin antimikrobiyal özelliklerinden çok antienzimatik özelliklerinden kaynaklandığı sonucunu çıkartmışlardır.

Günümüzde, periodontal hastalıkta artan kollajen yıkımının önlenmesi amacıyla etkin ve güvenilir (dirençli mikroorganizmaların oluşmaması, gastrointestinal sistem üzerinde etkilerinin bulunmaması) bir şekilde geleneksel periodontal tedaviyi destekleyebilecek doksisisiklinin en düşük doz ve rejiminin (her bir kapsül içerisinde bulunan ilacın miligramı, devamlı veya aralıklı uygulama şekli ile tedavinin süresi) belirlenebilmesine çalışılmaktadır.

MMP'lerin tetrasiklin baskılanımına karşı gösterdikleri duyarlılıklarında ortaya çıkan farklılıklar, çeşitli hastalıklardaki kollajenaz enziminin kaynağının belirlenebilmesi için bir gösterge olarak kullanılabilir. Örneğin; erişkin periodontitisli bireylerin DOS kollajenaz enziminin ana kay-

nağı PMN'lerken, lokalize juvenil periodontitiste fibroblastlardır (22).

SONUÇLAR

1. Tetrasiklinler antimikrobiyal etkinliklerine bağlı olmayan bir mekanizma ile kollajenaz enziminin aktivasyonunu baskılamaktadırlar.

2. Tetrasiklinin antienzimatik etkinlik gösteren bölgesi veya bölgelerinin belirlenebilmesi için tetrasiklin molekülünde birtakım değişiklikler yapılmış ve böylece KMT'ler üretilmiştir. KMT'lerin kullanıldığı in vivo ve in vitro araştırmalar, bu kimyasal ajanların periodontal hastalık ve çeşidi sistemik hastalıkların tedavisinde kullanılabilirliği için umut verici sonuçlar ortaya koymaktadır. KMT'lerin insanlarda kullanılmalarının güvenli olduğu kanıdanabilirse, belki de çok yakın bir gelecekte bu kimyasal ajanlardan klinik uygulamalarda periodontal tedaviyi desteklemek amacıyla yararlanılabilecektir.

3. Günümüzde gelişmekte olan teknolojik olanaklara koşut olarak periodontal hastalığın patogeneğinde rol oynayan mekanizmalar hakkındaki bilgilerimiz büyük bir hızla artmaktadır. Bu nedenle son yıllarda yapılan araştırmalarda periodontal hastalığın tedavisi amacıyla, doku yıkımında rol oynayan çeşitli biokimyasal ve immünolojik mekanizmaların belirli aşamalarında etkinlik gösterebilecek kimyasal ajanların kullanımı gündeme gelmiştir. Bu amaçla günümüzde semisentetik bir tetrasiklin türeviden doksisisiklinin düşük doz uygulamaları ile nonsteroid antiinflamatuar ilaçların periodontal hastalığın tedavisindeki etkinlikleri incelenmektedir. Bu tipteki bir yaklaşım gelecekte geleneksel periodontal tedaviye farklı bir bakış açısı getirebilir.

4. Tetrasiklinlerin yeni keşfedilmekte olan bu özelliklerinden, periodontal hastalık gibi kollajen yıkımıyla özelleşmiş enfekte olmamış kornea ülserleri, romatoid artrit gibi bazı medikal hastalıkların tedavisinde de yararlanılabilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Baramova EN, Shannon JD, Bjarnason JB, Fox JW. Degradation of extracellular matrix proteins by hemorrhagic metalloproteinases. *Arch Biochem Biophys* 1989; 275: 1: 63-71.
2. Bauer EA, Cooper TW, Tucker DR, Esterly NB. Phenytoin therapy of recessive dystrophic epidermolysis bullosa; Clinical trial and proposed mechanism of action in collagenase. *N Engl J Med* 1980; 303: 776-81.
3. Birkedal - Hansen H, Moore WGI, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, De Carlo A, Engler JA. Matrix Metalloproteinases: A review. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4 (2): 197-250.
4. Bouwsma O, Payonk G, Baron H, Sipos T. Low-dose doxycycline: Effects on clinical parameters in adult periodontitis. *J Dent Res* 1992; 71: abstr. no: 1119.
5. Brinkerhoff CE, Mcmillan RM, Dayer JM, Harris Jr ED. Inhibition by retinoic acid of collagenase production in rheumatoid synovial cells. *New Engl J Med* 1980; 303: 432-6.
6. Burns FR, Stack Ms, Gray RD, Paterson CA. Inhibition of purified collagenase from alkaline-burned rabbit corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 1569-75.
7. Chang KM, Ramamurthy NS, McNamara TF, Evans RT, Klausen B, Murray PA, Golub LM. Tetracyclines inhibit porphyromonas gingivalis-induced alveolar bone loss in rats by a non-antimicrobial mechanism. *J Periodont Res* 1994; 29: 242-9.
8. Chang KM, Ramamurthy NS, McNamara TF, Genco RJ, Golub LM. Infection with a Gram-negative organism stimulates gingival collagenase production in non-diabetic and diabetic germ-free rats. *J Periodont Res* 1988; 23: 239-44.
9. Delaisse JM, Vaes G. Mechanisms of mineral solubilization and matrix degradation in osteoclastic bone resorption. In Rifkin BR, Gay CV, eds. *Biology and physiology of the osteoclast*. CRC Press, 1992: 289-314.
10. Golub LM, Ciancio S, Ramamurthy NS, Leung M, McNamara TF. Low-dose doxycycline therapy: effect on gingival and crevicular fluid collagenase activity in humans. *J Periodont Res* 1990; 25: 321-31.
11. Golub LM, Ramamurthy NS, McNamara TF. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown: new therapeutic implications for an old family of drugs. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991; 2 (2): 297-322.
12. Golub LM, Suomalainen K, Sorsa T. Host modulation with tetracyclines and their chemically-modified analogues. *Curr Opin Dent* 1992; 2: 80-90.
13. Golub LM, Lee HM, Lehrer G, Nemiroff A, McNamara TF, Kaplan R, Ramamurthy NS. Minocycline reduces gingival collagenolytic activity during diabetes: preliminary observations and a proposed new mechanism of action. *J Periodont Res* 1983; 18: 516-26.
14. Golub LM, Ramamurthy NS, McNamara TF, Gomes JB, Wolff M, Casino A, Kapoor A, Zambon J, Ciancio S, Schneir M, Schneir M, Perry H. Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity: a new mechanism in the treatment of periodontal disease. *J Periodont Res* 1984; 19: 651-5.
15. Golub LM, Goodson JM, Lee HM, Vidal AM, McNamara TF, Ramamurthy NS. Locally and low-dose systemically administered tetracyclines inhibit tissue collagenase activity: potential new approaches in the treatment of periodontal disease. *J Periodontol* 1985; 56 (spec. issue.): 93.
16. Golub LM, Wolff M, Lee HM, McNamara TF, Ramamurthy NS, Zambon J, Ciancio SG. Further evidence that tetracyclines inhibit collagenase activity in human crevicular fluid and from other mammalian sources. *J Periodont Res* 1985; 20: 12-23.
17. Golub LM, McNamara TF, D'Angelo G, Greenwald RA, Ramamurthy NS. A nonantibacterial chemically modified tetracycline inhibits mammalian collagenase activity. *J Dent Res* 1987; 66: abstr. no: 1310.
18. Golub LM, Ciancio SG, Ramamurthy NS, Wolff M, Leung M, McNamara TF. Low-dose doxycycline therapy: effect on gingival and crevicular fluid collagenase activity in humans. *J Periodont Res* 1990; 25: 321-31.
19. Harris ED, Welgus HG, Krane SM. Regulation of mammalian collagenases. *Collagen Rel Res* 1984; 4: 493-9.
20. Hassell TM. Tissues and cells of the periodontium. *Periodontology 2000* 1993; 3: 9-38.
21. Hefti AF. Aspects of cell biology of the normal periodontium. *Periodontology 2000* 1993; 3: 64-76.
22. Ingman T, Sorsa T, Suomalainen K, Halinen S, Lindy O, Lauhio A, Saari H, Kontinen YT, Golub LM. Tetracycline inhibition and the cellular source of collagenase in gingival crevicular fluid in different periodontal diseases. A review article. *J Periodontol* 1993; 64: 82-8.
23. Frederick Woessner JR. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J* 1991; 5: 2145-54.
24. Labat-Robert J, Bihari-Varga, Robert L. Extracellular matrix. *FEBS Lett* 1990; 268: 2: 386-93.
25. Lee H, Golub L, Suzuki K, et al. Specificity of the anticollagenase action of tetracyclines. *J Dent Res* 1991; 70 (spec. issue.): 1621.
26. Lee W, Aitken S, Kulkarni G, Birck P, Overall CM, Sodek J, McCulloch CAG. Collagenase activity in recurrent periodontitis: Relationship to disease progression and doxycycline therapy. *J Periodont Res* 1991; 26: 479-85.
27. Levesque J-P, Hatzfeld A, Hatzfeld J. Mitogenic properties of major extracellular proteins. *Immunology Today* 1991; 12: 8:258-67.

28. Marotti A. The extracellular matrix of the periodontium: Dynamic and interactive tissues. *Periodontology* 2000 1993; 3: 39-64.
29. Mayne R, Burgeson RE. *Structure and function of collagen types*. Academic Press, Orlando, 1987: 93-107.
30. McCulloch CAG, Birek P, Ovarall C, Aitken S, Lec W, Kulkarni G. Randomized controlled trial of doxycycline in prevention of recurrent periodontitis in high risk patients: Antimicrobial activity and collagenase inhibition. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 616-22.
31. McCormick JRD, Fox SM ve ark. Studies of reversible epimerization occurring in tetracycline family. The preparation, properties and proof of structure of some 4-epi tetracyclines. *J Am Chem Chem Soc* 1957; 79: 2849.
32. Nagase H, Barrett AJ, Woessner Jr JF. Nomenclature and glossary of the matrix metalloproteinases. In: Birkedal-Hansen H, Werb Z, Welgus H.G., Van Wart H.E., eds. *Matrix Metalloproteinases and inhibitors*. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag; 1992: 421-4.
33. Ramamurthy NS, Zebrowski EJ, Golub LM. Insulin reversal of alloxan diabetes induced changes in gingival collagen metabolism of the rat. *J Periodont Res* 1974; 9: 199.
34. Ramamurthy NS, Lee H, Vidal A, McNamara T, Golub L. Effect of non-antimicrobial tetracycline on gingivitis and collagenase activity in ODU-rats. *J Dent Res* 1989; 86 (spec. Iss.): Abstr. no. 1840.
35. Ramamurthy NS, Zebrowski EJ, Golub LM. Collagenolytic activity of alloxan diabetic rat gingivae. *Diabetes* 1973; 22: 272.
36. Ramamurthy NS, Zebrowski EJ, Golub LM. The effect of alloxan diabetes on gingival collagen metabolism in the rat. *Arch Oral Biol* 1972; 17: 1551.
37. Ramsammy L, Ramamurthy N, Greenwald R, Arbeit L, Golub LM. Tetracycline administration ameliorates diabetic rat kidney dysfunction. *Kidney Int.*, submitted.
38. Rifkin BR, Golub LM, Sanavi F, Vernillo AT, Kleckner AP, McNamara TF, Auszmann JM, Ramamurthy NS. Effects of tetracyclines on rat osteoblast collagenase activity and bone resorption in vitro. In: Davidovitch Z, eds. *Biological mechanisms of tooth movement and craniofacial adaptation*. Birmingham, EBSCO Media, 1991: 85-90.
39. Rifkin BR, Vernillo AT, Golub LM. Blocking periodontal disease progression by inhibiting tissue-destructive enzymes: A potential therapeutic role for tetracyclines and their chemically-modified analogs. *J Periodontol* 1993; 64: 819-27.
40. Schroeder KL, Ramamurthy NS, Szczepanek KA, Tofil P, Smith P, Lee H-M, Golub LM. Low-dose doxycycline prevents attachment loss in adult periodontitis. *J Dent Res* 1992; 72: abstr. no: 1936.
41. Sipos T, Oleniacs W, Kellerman FA. The effect of collagenase inhibitors on alveolar bone loss due to periodontal disease in desalivated rats. In: *Matrix Metalloproteinase Conference Proceedings*. Destin: 1989: 43.
42. Sorsa T, Suomalainen K, Helenius J, et al. Periodontal disease. *New Engl J Med* 1990; 323: 133-4.
43. Sorsa T, Uitto V.J, Suomalainen K, Vauhkonen M, Lindy S. Comparison of interstitial collagenases from human gingiva, fluid and polymorphonuclear leukocytes. *J Periodont Res* 1988; 23: 386-93.
44. Sorsa T, Ingman T, Suomalainen K, et al. Cellular source and tetracycline-inhibition of gingival crevicular fluid collagenase in patients with labile diabetes. *J Clin Periodontol* 1992; 19: 146-9.
45. Stetler-Stevenson WG, Liotta LA, Kleiner Jr DE. Extracellular matrix 6: Role of matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. *FASEB J* 1993; 7: 1434-41.
46. Suomalainen K, Sorsa T, Saxen L, Vauhkonen M, Uitto V.J. Collagenase activity in gingival crevicular fluid of patients with juvenile periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1991; 6: 6-14.
47. Takai N, Shinohara M, Yoshida Y, Ohura K, Mori M, Kakudo Y. Effect of streptozotocin diabetes on gingivitis in plaque-susceptible rats. *J Dent Res* 1986; 65: 49.
48. Uitto V.J, Suomalainen K, Sorsa T. Salivary collagenase: Origin, characteristics and relationship to periodontal health. *J Periodont Res* 1990; 25: 135-42.
49. Uitto V.J, Larjava H. Extracellular matrix molecules and their receptors: An overview with special emphasis on periodontal tissues. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991; 2: 323-54.
50. Uitto V.J. Collagen degradation in periodontal diseases. In: Tschesche HB, eds. *Proteinases in inflammation and tumor invasion*. Walter de Gruyter; 1986: 211-23.
51. Van Der Rest M, Garrone R. Collagen family of proteins. *FASEB J* 1991; 5: 2814-23.
52. Vernillo AT, Ramamurthy NS, Lee H-M, Mallya S, Auszmann J, Golub LM, Rifkin BR. ROS and UMR Osteoblast Gelatinases: Tetracycline inhibition. *J Dent Res* 1993; 73: abstr. no: 367.
53. Zucker S, Wieman J, Lysik RM, Imhof B, Nagase H, Ramamurthy NS, Liotta LA, Golub LM. Gelatin-degrading type I V collagenase isolated from human small cell lung cancer. *Invas Metast* 1989; 9: 167-181.

Yazışma adresi:

Dr İrfan Cebeci

İ. Ü. Diş Hek Fak

Periodontoloji Anabilim Dalı

34390 Çapa - İstanbul