

Araşidonik Asit Metabolitleri ve Prostaglandinlerin Doku Yıkımındaki Rolü

The Role of Arachidonic Acid Metabolites and Prostaglandins in Tissue Destruction

 Zeynep Pınar KELEŞ YÜCEL^a,
 Gülnur EMİNGİL^b

^aGiresun Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi,
Periodontoloji ABD,
Giresun, Türkiye
^bEge Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi,
Periodontoloji ABD,
İzmir, Türkiye

Yazışma Adresi/Correspondence:
Zeynep Pınar KELEŞ YÜCEL
Giresun Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi,
Periodontoloji ABD,
Giresun, Türkiye
zeynepinar14@hotmail.com

ÖZET Araşidonik asit, normalde membran bağlı fosfolipidlerde lokalizedir ve inflamatuvar bir uyarıya cevap olarak fosfolipaz A2 enziminin etkisiyle salınır. Araşidonik asitten enzimatik olarak üretilen prostaglandinler (PG), özellikle de PGE2, güçlü lipid mediyatörleridir. PGE2, inflamatuvar konak cevabında ve periodontal doku yıkımında belirleyici bir mediyatör olarak kabul edilir. Periodontal dokularda artan PGE2 seviyelerinin, periodontal ataşman kaybının ve hastalığın ilerleyişinin bir göstergesi olduğu öne sürülmektedir. Birçok biyolojik etkiye sahip olan PGE2, periodontal hastalıkta diş kaybına neden olan alveol kemiği yıkımının güçlü bir uyarıcısı olarak bilinmektedir. Bu nedenle araşidonik asit metabolizması ve PG'ler, periodontal hastalık patogenezinde önemli bir yere sahiptir. Bu bölümde, araşidonik asit metabolizması ve ana ürünü olan PG'lerin periodontal doku yıkımındaki rolü ele alınmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Araşidonik asit; prostaglandinler; periodontal hastalıklar; alveoler kemik kaybı

ABSTRACT Arachidonic acid is normally localized in membrane-bound phospholipids and is released by the action of the enzyme phospholipase A2 in response to an inflammatory stimulus. Prostaglandins (PG), especially PGE2, produced enzymatically from arachidonic acid are potent lipid mediators. PGE2 is considered a prominent mediator in the inflammatory host response and periodontal tissue destruction. Increased PGE2 levels in periodontal tissues are suggested to indicate periodontal attachment loss and disease progression. PGE2 influence many biological processes and is known as a potent stimulator of alveolar bone destruction, which leads to tooth loss in periodontal disease. Therefore, arachidonic acid metabolism and PGs have a crucial involvement in the pathogenesis of periodontal disease. In this section, the role of the arachidonic acid metabolism and its key product, PGs, on periodontal tissue destruction are discussed.

Keywords: Arachidonic acid; prostaglandins; periodontal diseases; alveolar bone loss

İnflamasyon, insan sağlığı ve hastalığında önemli rol oynayan fizyolojik yanıtlar bütünüdür. İnflamasyon, patojenler veya yabancı cisimlere karşı konak dokunun verdiği koruyucu bir cevap olarak başlar. Bu süreç, vasküler dilatasyon, kapiller geçirgenliğin artışı, kan akımında artış ve lökositlerin bölgeye gelmesi ile karakterizedir. Konağın verdiği bu inflamatuvar cevap koruyucu olmasına rağmen, polimorf nüveli lökositlerin fagositozu yoluyla toksik maddeleri uzaklaştırılmaması, apoptotik inflamatuvar hücrelerin temizlenememesi ve apoptozun gecikmesi kronik patolojik durumu karakterize eder. Dolayısıyla inflamasyonun çözülememesi ve doku homeostazının sağlanamaması nötrofil aracılı yıkım ve kronik inflamasyonla sonuçlanır; bu da periodontal hastalık gibi kronik inflamatuvar hastalıkların gelişimine neden olur.¹

Periodontal hastalık, diş destekleyen yumuşak ve sert dokuların yıkımı ile sonuçlanan ve kronik inflamasyona yol açan önemli enfeksiyonlardır. Periodontitis patogenezine konak ve mikrobiyal faktörler arasındaki sürekli etkileşimler aracılık eder.² İnflamatuvar hücreler, hastalık nedeni olan periodontal patojenleri ve ürünlerini (lipopo-

KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN:
Makale Yazarı. Makale Başlığı. editör.
Özel Sayı Adı. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Kli-
nikleri; 2023. p....

lisakkaritler, endotoksinler gibi) fagositoz ve hücre içi öldürme mekanizmaları yoluyla temizleyebiliyorsa, hastalık gingivitis ile sınırlı kalır. Ancak bu mekanizmalar başarısız olursa ve periodontopatojenler ve/veya ürünleri konak dokulara invaze olursa kronik inflamatuvar yanıt başlar ve hastalık periodontitise dönüşür.³ Kronik inflamasyon durumunda inflamatuvar yanıtın kalıcılığı konak doku tahribatına yol açar ve geri dönüşü olmayan patolojik değişikliklere neden olabilir. İnflamasyonun başlamasında ve ilerlemesinde immün hücrelerce üretilen çeşitli kimyasal mediyatörler rol oynar. Konak monosit-lenfosit eksenini uyarılır ve inflamatuvar mediyatörlerin lokal salınımına yol açar. Bu inflamatuvar mediyatörler, bireylerde klinik atışman kaybı ve alveol kemiği rezorpsiyonu ile karakterize lokal doku yıkımına doğrudan neden olur.^{1,3} Sitokinler, kemokinler ve araşidonik asit metabolitleri gibi moleküller konak inflamatuvar mediyatörleri olarak tanımlanmaktadır.³ Bir araşidonik asit metaboliti olan prostaglandinler (PG), periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde önemli rol oynar.⁴ Bu bölümde, araşidonik asit ve PG'lerin periodontal doku yıkımındaki rolü ele alınmaktadır.

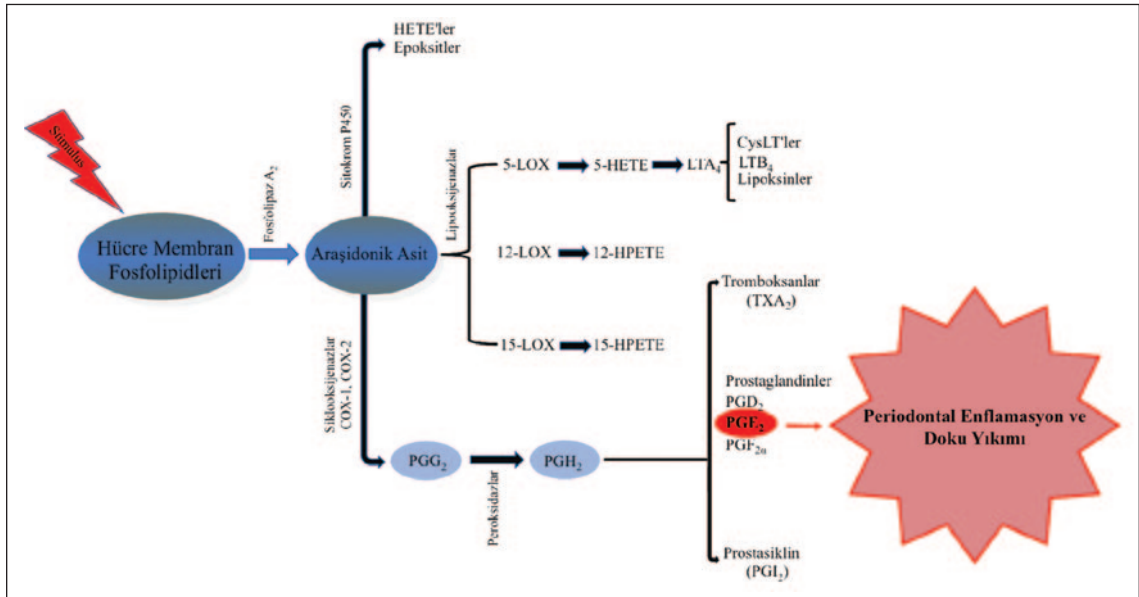
ARAŞIDONİK ASİT METABOLİZMASI

Araşidonik asit (5,8,11,14-cis-eikosatetraenoik asit), dört çift bağa sahip ω -6 serisi bir eikosanoik asittir. Başlangıçta linoleik asit ile birlikte arakis (yer fıstığı) yağından izole edilen araşidonik asit, hayvanlarda fosfolipid metabolizmasının önemli bir bileşeni olarak kabul edilmektedir.^{5,6} Birçok eikosanoidin biyosentezi araşidonik asitte başlar ve

serbest araşidonik asitin mevcudiyetine bağlıdır. Dokular, büyüme faktörleri, hormonlar veya sitokinler gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik uyarılara maruz kaldığında, fosfolipaz A_2 enzimlerinin etkisiyle membran fosfolipidlerinden araşidonik asit üretilir ve daha sonra farklı eikosanoidlere dönüştürülebilir.⁷

Araşidonik asitin önemi, üç farklı enzim sistemi olan siklooksijenazlar (PGG/H sentazları olarak da anılan COX'ler), lipoksijenazlar (LOX'ler) ve sitokrom P450 (CYP) (ω -hidroksilazlar ve epoksijenazlar) enzimleri tarafından metabolize edilebilmesi gerçeğine dayanmaktadır (Şekil 1).⁸

COX'ler, araşidonik asiti metabolize ettiği bildirilen ilk enzimlerdir ve prostanooidlerin, yani PG'lerin ve tromboksanların (TX) sentezini gerçekleştirir. Bu, lipidin plazma membranından fosfolipazlar tarafından salınmasının ardından araşidonik asitin COX enzimleri tarafından PGG₂ ve PGH₂'ye metabolize edilmesini gerektirir. Daha sonra PGH₂, PG'lere ve TX'lere metabolize olur.⁸ PG ve TX, siklik bir halka içermeleri ve COX enziminin etkisi ile üretilmeleri bakımından yapısal olarak benzerdir. İki farklı COX izoformu vardır: COX-1 ve COX-2. COX-1 ve COX-2 arasındaki en önemli fark fonksiyonel özellikleridir. COX-1 birçok hücrede yapısal olarak üretilirken, COX-2 inflamatuvar uyarılar tarafından indüklenir ve inflamatuvar hastalıklarda prostanooid oluşumunun daha önemli kaynağı olarak bilinir. Bu nedenle, COX-2 aynı zamanda "inflamatuvar siklooksijenaz" olarak da adlandırılır.⁸⁻¹⁰



ŞEKİL 1: Periodontal hastalıkta araşidonik asit metabolizması ve prostaglandinlerin rolü.

LOX enzim yolu, ikinci eikosanoid ve inflamatuvar yol olup bu enzimler lökotrienleri (LT) üretir. Üç farklı LOX, araşidonic asidin 5, 12 ve 15 pozisyonlarını değiştirerek araşidonic asiti hidroperoksieikosatetraenoik asitlere (HPETE) ve hidroksieikosatetraenoik asitlere (HETE) dönüştürür. 5-LOX, 12-LOX ve 15-LOX sırasıyla nötrofiller, trombositler ve endotelial/epitelial hücrelerde bulunur ve ürünleri buna göre 5-HETE, 12-HETE ve 15-HETE olarak adlandırılır. 5-HETE, LTA₄'e dönüştürülür ve LTB₄, sisteinil (Cys)-LT'ler (LTC₄, LTD₄ ve LTE₄) ve lipoksin (LX)'ler sentezlenir.^{7,11}

P-450 epoksijenaz yolu ise HETE'leri ve epoksitleri üretir.⁷

Araşidonic asit metabolitleri olan inflamatuvar lipid mediyatörleri, sağlıkta ve hastalıkta kritik rol oynar. İnflamasyonun başlamasındaki ve ilerlemesindeki süreçlerde önemli seviyede yer alırlar ve bu nedenle "proinflamatuvar mediyatörler" olarak adlandırılırlar.^{5,7} Dolayısıyla, araşidonic asit metabolizması hareketlerini bloke ederek, PG'ler gibi eikosanoidlerin sentezini engellemenin inflamasyonu bloke etmenin etkili bir yolu olduğu düşünülmektedir.

ARAŞİDONİK ASİT METABOLİTİ PG'LERİN PERİODONTAL İNFLAMASYONDAKİ ROLÜ

Araşidonic asit metabolitleri, biyoaktif lipid mediyatörleridir ve lokal doku hasarına cevap olarak enzimatik olarak üretilerek konak savunması ve inflamasyon gibi patofizyolojik süreçlerde önemli rollere sahiptir. Araşidonic asit, bu lipid mediyatörlerinin biyosentezi için önemli ve yaygın bir endojen öncü olup araşidonic asidin salınması, birçok fagositik ve immün hücre tarafından üretilen bu mediyatörlerin üretiminde hız belirleyici adımı oluşturur.¹ Araşidonic asit ve metabolitlerinden olan PG'ler, periodontal hastalıklar da dahil olmak üzere çeşitli inflamatuvar hastalıkların patogenezinde önemli bir yere sahiptir. Konak immün cevabında yer alan hücreler arasında makrofajlar, PG'lerin sentezinden önemli düzeyde sorumludur. Makrofajlar, COX aktivitesi gösterebilen hücrelerdir ve bir uyarı ile COX yolunu aktive ederler.⁷ PG'lerin 10 alt sınıfı vardır ve bunların en önemlileri D, E, F, G, H ve I'dir.¹² Araşidonic asit sentezi uyarıldığında, inflame dişeti sağlıklı dişetinden anlamlı olarak daha fazla miktarda PG sentezler.¹³ İmmün inflamatuvar yanıtta en belirgin ve en iyi bilinen PG, PGE₂'dir.⁷ PGE₂, makrofajlar dışında dendritik hücreler, fibroblastlar, endotelial hücreler ve bazı malign hücre türleri de dahil olmak üzere birçok hücre tipi tarafından üretilir.⁷ Ancak, gingival lezyonlarda PGE₂ esas olarak makrofaj benzeri hücrelerde lokalizedir ve bakteriyel lipopolisakka-

ritler ile uyarıldığında salgılanır.¹⁴ Ayrıca, periodontal ligament hücreleri de uyarılmadığında bile PGE₂ üretmektedir. PGE₂ sekresyonu, interlökin (IL)-1b, tümör nekroz faktör (TNF)- α gibi sitokinler tarafından da desteklenir.¹⁵ Bununla birlikte, nötrofiller de, periodontitis hastalarının dişeti oluğu sıvısı (DOS) içeriğinde saptanan PGE₂'nin büyük çoğunluğundan sorumlu olan zengin bir PGE₂ kaynağıdır. Bu nedenle, periodontal lezyonlarda inflamatuvar mediyatörlerin kaynağının makrofajlarla birlikte nötrofiller de olduğu literatürde yerini almıştır.⁵ *in vivo* lökosit infiltrasyon modeli kullanarak yapılan araştırma, *Porphyromonas gingivalis*'in, nötrofil COX-2 aktivasyonunun ve ardından PGE₂ seviyelerinde artışın eşlik ettiği aşırı nötrofil akışını uyardığını göstermiştir.¹⁶ Aynı şekilde, *Porphyromonas gingivalis*'e maruz kalan insan nötrofillerinin, COX-2 mRNA ekspresyonunu artırdığı da gözlenmiştir.¹⁶

Mikrobiyal dental biyofilm, periodontal hastalığın primer etyolojisi olarak kabul edilir; ancak konağın sitokinler ve PG'ler gibi inflamatuvar moleküllerin üretimini indükleyen periodontopatojenlere ve ürünlerine karşı olan yanıtı, periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde kritik öneme sahiptir. Dolayısıyla, periodontitisin patogenezine sitokinler (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α), kemokinler, PG'ler ve matris metalloproteinazlar (MMP) aracılık eder.^{15,17} İnflamatuvar süreç, lipopolisakkaritlerin gram negatif bakterilerin yüzeyinden periodontal dokulara penetrasyonu ile başlar. Lipopolisakkaritler; PGE₂, IL-1, IL-6 ve IL-8, TNF- α ve MMP'ler gibi inflamatuvar mediyatörleri salgılamak için monositleri/makrofajları uyarır ve bu da, çeşitli proteolitik enzimler üretmek ve kemik rezorpsiyonunu uyarmak için vasküler düz kas hücrelerini, fibroblastları, monositleri/makrofajları ve osteoklastları tetikleyebilir. Bunun bir sonucu olarak, klinik inflamasyon ve periodontal ataşman kaybı meydana gelir.^{4,17}

Araşidonic asit metabolizmasının ana ürünü olan PGE₂, periodontal hastalıkların patogenezinde anahtar bir mediyatör olarak gösterilmiştir. PGE₂, vazodilatasyonu ve vasküler geçirgenliğin artmasını indükleyerek ödem ve eritem gibi klinik inflamasyon belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olur.^{3,18} Bu nedenle inflame dişeti dokularında PGE₂ seviyesinin yükselmesi şaşırtıcı olmamakla birlikte, periodontitis varlığında DOS'taki düzeylerinin sağlıklı bölgelere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir.¹⁸⁻²⁰ Daha da önemlisi, periodontitis hastalarının DOS PGE₂ seviyesinin ataşman kaybı ve dolayısıyla hastalığın şiddeti ile doğru orantılı olduğu bildirilmiştir.²¹ Bu durum, PGE₂'nin aynı zamanda monositler ve fibroblastlar tarafından bağ dokusu yıkımına neden olan MMP sentezinin güçlü bir uyarıcısı olduğunu ortaya koymuştur.²²

Gingival fibroblastlar, dişeti dokusunda en yoğun bulunan hücre tipidir ve bağ dokusunun yeniden şekillenmesinde rol oynamaktadır. Gingival fibroblastlar, proinflatuar sitokinelere ve bakteriyel lipopolisakkaritlere karşı yanıt olarak PGE₂ salgılama kabiliyetini göstermiştir ve bu nedenle periodontal hastalıklarda görülen bağ dokusu yıkımında rol oynadığına inanılmaktadır.^{4,23} İnsan gingival fibroblastlarında IL-1b, COX-2 yoluyla PG üretiminin güçlü bir uyarıcısıdır.^{24,25} IL-1b'ya karşı savaşan gingival fibroblastlar, tirozin kinaz yolları aracılığıyla COX-2 ekspresyonunu indükler.²⁶ TNF- α , IL-1b ile karşılaştırıldığında PGE₂ üretiminde nispeten daha az güçlü bir uyarıcıdır, ancak TNF- α ve IL-1b sinerjistik olarak PGE₂ üretimini artırır.²⁵ IL-1a ve IL-1b'nin periodontal ligament hücrelerinde de COX-2'yi indükleyerek PGE₂ ekspresyonunu güçlü bir şekilde uyardığı bildirilmiştir.^{27,28} Araştırmalar, mekanik stresin ve kuvvetin periodontal ligament hücrelerinde COX-2 üretimini indüklediğini ve bunun PGE₂ salınımında çarpıcı bir artışa yol açtığını göstermektedir.^{29,30}

Periodontal hastalık patogenezinde önemli bir yere sahip olan IL-6, B hücresi aktivasyonunu ve osteoklast oluşumunu uyaran bir sitokindir; ve IL-1, gingival fibroblastlarda IL-6 üretimini indükleyebilmektedir. PGE₂, periodontal olarak sağlıklı bireylerin gingival fibroblastlarında IL-1 ile indüklenen IL-6 üretimini baskımlarken, periodontitis hastalarının gingival fibroblastlarında IL-1 ile indüklenen IL-6 üretimini artırır.^{4,31} PGE₂ bu farklı regülasyonu reseptörleri yoluyla yapmaktadır. PGE₂'nin biyolojik etkilerine PGE'ye özgü G-protein-bağlı reseptörler (EP) aracılık eder. Bu reseptörler, EP1, EP2, EP3, EP4 olmak üzere 4 alt gruptan oluşur.³² EP1 reseptör aktivasyonunun, IL-1 ile indüklenen IL-6 üretiminde bir artışa neden olduğu, EP2/EP4 reseptör aktivasyonunun ise azalmaya yol açtığı gösterilmiştir.³³ Bu nedenle, EP reseptörlerinin işlevleri, konak cevabının düzenlenmesinde rol oynayabilmektedir.

MMP'ler, kollajen, jelatin ve proteoglikan gibi ekstrasellüler matriks komponentlerini yıkıma uğratan çinko-bağlı endoproteazlar ailesidir.^{4,15} MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9 ve MMP-13 gibi MMP'ler periodontal doku yıkımı ile yakından ilişkilidir.⁴ PGE₂'nin, EP4 reseptörleri yoluyla MMP-2 ve MMP-13 üretimini uyardığı rapor edilmiştir.³⁴ PGE₂, gingival fibroblastlarda ve periodontal ligament hücrelerinde, EP1 reseptörü aracılığıyla IL-1'in uyardığı MMP-3 üretimini artırırken, EP2/EP4 reseptörleri aracılığıyla bu MMP-3 üretimini azaltmaktadır.^{35,36} Yine, periodontal ligament hücrelerinde, EP1 reseptörleri yoluyla IL-1 ile indüklenen MMP-13 üre-

timini ve EP2/EP4 reseptörleri yoluyla TNF- α ile indüklenen MMP-13 üretimini azaltmaktadır.³⁷ Lipopolisakkaritlere, denatüre olmuş kollajen ve osteonektine karşı cevap olarak monositler/makrofajlar tarafından yapılan MMP-1 ve MMP-9 sentezi de, yine endojen PGE₂ tarafından düzenlenir.³⁸ Dolayısıyla, periodontal lezyonlarda PGE₂'nin sadece proinflatuar bir mediyatör olarak değil, aynı zamanda antiinflatuar özelliklere de sahip olması muhtemeldir.

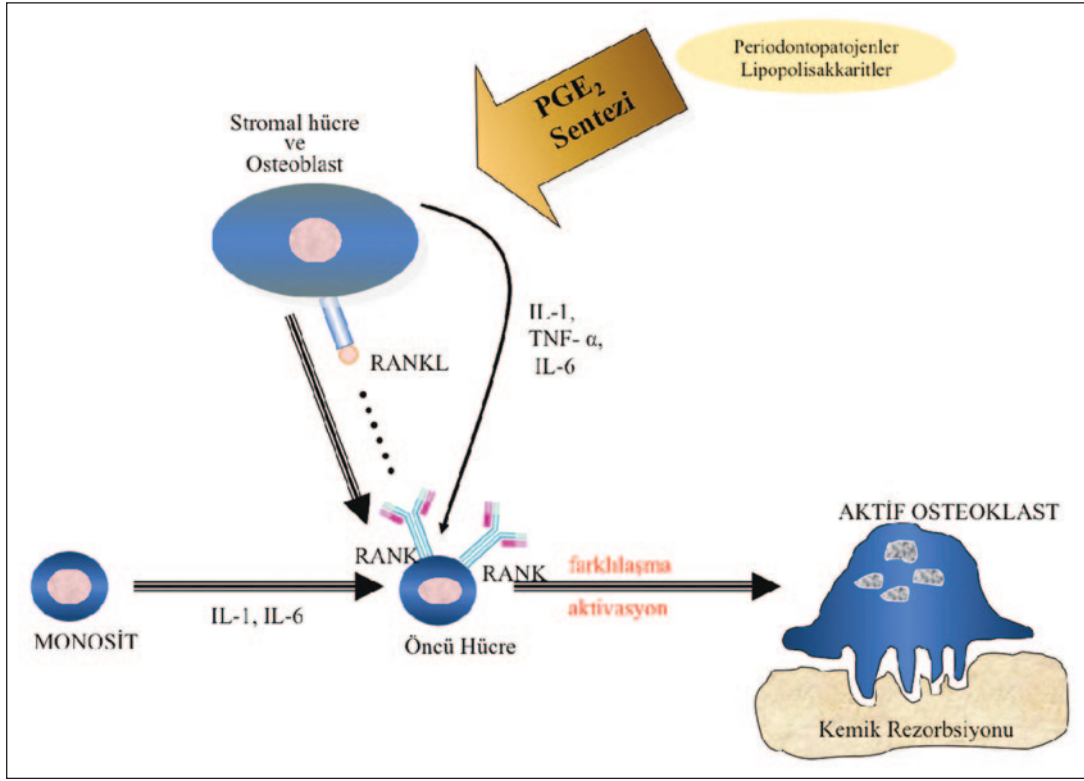
■ PGE₂'NİN KEMİK METABOLİZMASI ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Periodontitis, periodontal ataşman kaybı ve alveol kemiği rezorbsiyonu ve diş kaybına yol açan dişeti inflamasyonu ile karakterize kronik inflamatuar bir hastalıktır. Periodontal hastalık patogenezi, bakteriyel enfeksiyon tarafından tetiklenen sert ve yumuşak dokuların konak aracılığıyla yıkımını içerir. Bu süreçte, PG'ler gibi güçlü proinflatuar mediyatörlerin sentezine yol açan arazi-donik asit yolağı aktivasyonu önemli rol oynar.^{3,4}

PG'lerin kemik üzerindeki fizyolojik ve patolojik etkileri çok sayıda çalışma ile incelenmiştir. Kemik içinde primer olarak osteoblastlar tarafından üretilir, osteoblastik hücreler tarafından en fazla üretilen PG, PGE₂'dir.³⁹ PGE₂'nin kemik yıkımındaki etkisi yarım asırdan uzun bir süredir bilinmektedir. Kemik rezorpsiyonundaki aktivitesi, ilk olarak osteoblast ve osteoklastların bir arada bulunduğu bir kültür ortamında *in vitro* olarak rapor edilmiştir.⁴⁰ O zamandan beri PGE₂'nin osteoblastlar ve osteoklastlar üzerindeki etkileri hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarla ortaya konmuştur.^{39,41} Günümüzde PGE₂, kemik metabolizmasının en önemli lokal düzenleyicilerinden biri olarak kabul edilmektedir.

PGE₂, *in vitro* osteoklastları oluşturmak için osteoblastlar üzerinde otokrin etki ederek kemik rezorpsiyonuna yol açar. Çok sayıda sitokin, büyüme faktörü ve hormonun, osteoblastlarda COX-2'yi etkileyerek PGE₂ üretimini arttırdığı bilinmektedir. IL-1 ve IL-6 gibi bu moleküllerin bir çoğunun kemik rezorpsiyonunu arttırdığı rapor edilmiştir.⁴²

Genel olarak PGE₂'nin güçlü bir kemik yıkımı mediyatörü olduğu düşünülmektedir. PGE₂'nin osteoblastlarda nükleer faktör- κ B ligandının reseptör aktivatörü (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) arasındaki denge yoluyla osteoklast formasyonunu düzenlediği bilinen bir gerçektir.^{43,44} Osteoblastların hücre yüzeyindeki RANKL ekspresyonu, osteoklast farklılaşması için gereklidir. *In vitro*, PGE₂, osteoklastları oluşturmak üzere osteoblastlarda ve stromal



ŞEKİL 2: PGE₂'nin kemik yıkım mekanizmasındaki rolü.

hücrelerde RANK'ı indükler (Şekil 2).^{4,39} İn vivo olarak dişeti oluşuna topikal olarak uygulanan 1 mg/ml PGE₂'nin osteoklastlarda belirgin bir artışa neden olduğu, PGE₂ ve lipopolisakarit kombinasyonu uygulamasının tek başına PGE₂'ye göre daha fazla sayıda osteoklast indüklediği gösterilmiştir.⁴⁵ Yapılan bir çalışmada, IL-1a, TNF- α , lipopolisakarit ve fibroblast büyüme faktörünün osteoklast oluşumunu indüklemeye başarısız olduğu ve osteoklast oluşumuna COX-2 yoluyla üretilen PGE₂'nin EP4 reseptörlerinin aracılık ettiği rapor edilmiştir.⁴⁶ Li ve ark. ise, osteoklast formasyonuna PGE₂'nin EP2 reseptörlerinin aracılık ettiğini bildirmiştir.⁴⁷ Organ kültüründe yapılan başka bir araştırma da, PGE₂'nin EP4 ve kısmen de EP2 reseptörleri yoluyla kemik rezorpsiyonunu indüklediğini göstermiştir.⁴⁸ Artan kanıtlar doğrultusunda, PGE₂ reseptörlerinden EP2 ve EP4'ün kemik yıkımına en fazla katkıda bulunanlar olduğu düşünülmektedir. Bunun dışında, lipopolisakarit ve IL-1'in, RANKL ekspresyonunu artırarak ve COX-2'ye bağlı PGE₂ üretiminin aracılık ettiği OPG üretimini baskılayarak osteoklastogenezi uyardığı gösterilmiştir.⁴³

PGE₂, periodontal ligament hücrelerinin de alveol kemiği yıkımına katılmasını sağlar. Periodontal ligament hücreleri, alkalin fosfataz aktiviteleri de dahil olmak

üzere osteoblastlara benzer özelliklere sahiptir. Mekanik stres altındaki periodontal ligament hücrelerinin, PGE₂ sentezi yoluyla RANKL ekspresyonunun artmasına neden olarak osteoklastogenezi indüklediği gösterilmiştir.⁴⁹ Nukaga ve ark. insan periodontal ligament hücrelerinin IL-1b ile uyarılmasının, PGE₂'ye bağımlı bir şekilde EP2/EP4 reseptörleri aracılığıyla RANKL'ı indüklediğini göstermişlerdir.⁵⁰ İnsan periodontal ligament hücrelerinde yapılan başka bir çalışmada, PGE₂'nin sentezi yoluyla *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* lipopolisakaritin RANKL'ı indüklediği gösterilmiştir.⁵¹ Yine, Sakata ve ark., insan periodontal ligament hücrelerinde IL-1b ile indüklenen OPG üretiminin endojen PGE₂ yoluyla baskılandığını saptamışlardır.⁵² Bu veriler, proinflatuar moleküllerle uyarılan periodontal ligament hücrelerinin de, RANKL ve OPG sekresyonunu düzenleyerek periodonsiyumdaki kemik metabolizmasına dahil olduğunu göstermektedir.

PGE₂'NİN ÜRETTİĞİ KEMİK YIKIM MEDİYATÖRLERİ

PGE₂'nin doku yıkımında, RANKL yoluyla osteoklast oluşumunun yanı sıra inflamatuvar mediyatörleri ve MMP'leri uyararak rol oynar.

RANKL

Çeşitli sistemik hormonlar (1 α ,25-(OH) $_2$ vitamin D3 ve Paratiroid hormon), büyüme faktörleri ve sitokinler, osteoklastların osteoblastlar yoluyla kemiği rezorbe etme yeteneğini artırır.³⁹ Böyle bir eksternal osteoklastik kemik rezorpsiyonu, öncelikle osteoblastlar üzerindeki RANKL ve osteoklastlar üzerindeki RANK arasındaki hücre yüzeyi etkileşimine bağlıdır. Osteoklast oluşumu, RANKL'a bağlanan ve onun RANK ile etkileşimini önleyen bir tuzak reseptör olan OPG tarafından inhibe edilebilir.³⁹ PGE $_2$, cAMP'ye bağlı bir şekilde RANKL üretimini uyarabilir ve OPG üretimini inhibe edebilir.^{43,47,48}

IL-6

IL-6'nın kemik rezorpsiyonunu uyardığı bildirilmiştir. PGE $_2$, fare ve sıçan osteoblastlarında EP1 ve EP2 sinyali yoluyla IL-6 üretimini indükler. PGE $_2$, cAMP protein kinaz A yoluyla IL-6 promotörünü aktive eder.⁵³ Bu nedenle, PGE $_2$ osteoblastlarda IL-6 üretimi yoluyla osteoklast oluşumunu artırabilir. Diğer yandan, PGE $_2$ -EP4 sinyal yolunun da IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler yoluyla kemik rezorpsiyonunun indüklenmesi için özellikle önemli olduğu gösterilmiştir.⁵⁴ IL-6'nın osteoblastlarda RANK/RANKL/OPG sistemi aracılığıyla osteoklastogenezi düzenlediği de bildirilmiştir.⁵⁴

IL-1

IL-1'in her iki formu da (IL-1a ve IL-1b) güçlü kemik yıkım sitokinleridir. IL-1b'nin osteoblastlar tarafından PGE $_2$ ile uyarılan osteoklast oluşumuna aracılık ettiği bildirilmiştir.³⁹ Artan kanıtlar, PGE $_2$ 'nin cAMP-protein kinaz A yoluyla osteoblastlarda IL-1b gen ekspresyonunu ve protein üretimini indüklediğini göstermiştir.^{39,55} Aynı şekilde IL-1b'nin da osteoblastlarda PGE $_2$ sentezini uyardığı rapor edilmiştir.⁴³ Bu bilgiler, IL-1'in PGE $_2$ 'yi içeren bir mekanizma ile osteoklast oluşumunu indüklediğini gösteren diğer çalışmalarla desteklenmektedir.⁵⁶ Otokrin PGE $_2$ tarafından osteoblastlarda OPG üretiminin baskılanması, IL-1b ile indüklenen osteoklast oluşumunun kritik mekanizmalarından biridir.^{43,56} Bakıldığında, PGE $_2$ ve IL-1'den oluşan osteoblastik döngünün, RANKL'a bağlı bir mekanizma yoluyla osteoklast oluşumunu ve kemik yıkımını düzenlediği görülmektedir. Osteoklast oluşumundaki bu sinerji, PGE $_2$ ve IL-6 arasındaki ilişkiye benzerlik göstermektedir.

PGE $_2$

PGE $_2$ osteoblastik hücrelerde kendi üretimini arttırabildiği bildirilmiştir.³⁹ Bu durum "Otoamplifikasyon" olarak ad-

landırılır ve COX-2 seviyelerinde artışla birlikte görülür.³⁹ EP2 ve EP4 reseptörlerinin aktivasyonunun, fare osteoblastlarında COX-2 mRNA transkripsiyonu ile sonuçlandığı gösterilmiştir. EP1 reseptörünün, osteoblastik MC3T3-E1 hücrelerinde PGE $_2$ otoamplifikasyonundan sorumlu olduğu bildirilmektedir.³⁹ Bu otoamplifikasyon sisteminin, kemik yıkımının görüldüğü inflamatuvar hastalıklarda PGE $_2$ üretiminin sürdürülmesi ve kısa ömürlü PGE $_2$ 'nin etkilerinin uzaması açısından kritik önemi olduğu söylenebilir.

MMP

PGE $_2$ ile uyarılan kemik rezorpsiyonuna MMP'lerden MMP-2 ve MMP-13 sentezinin eşlik ettiği bildirilmiştir.^{34,39} Yapılan bir diğer çalışmada ise PGE $_2$ 'nin fare osteoblastlarında intersitisyel bir kollajenaz olan MMP-1'in mRNA ekspresyonunu arttırdığı saptanmıştır.⁵⁷

ARAŞIDONİK ASİT VE PGE $_2$ 'NİN PERİODONTAL HASTALIK ÜZERİNDEKİ ETKİSİNE İLİŞKİN KLİNİK ÇALIŞMALAR

Araşidonik asit ve PGE $_2$ ve periodontal hastalık arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar çok uzun yıllar öncesine dayanmaktadır. Çok sayıda araştırma, prostanoidlerin, özellikle PGE $_2$ 'nin periodontal hastalığın patogenezinde rol oynadığını göstermiştir.^{12-15,17-20}

Cerrahi operasyon sırasında eksize edilen insan dişeti biyopsilerini inceleyen Goodson ve ark. sağlıklı dişeti dokusu ile karşılaştırıldığında periodontal hastalıklı dokuda PGE $_2$ 'nin 10 kat arttığını bildirmiştir.¹⁹ Offenbacher ve ark., DOS araşidonik asit metabolit konsantrasyonlarını analiz eden bir dizi çalışma başlatmıştır.^{17,21} İlk olarak periodontitisli bireylerin, periodontitis olmayan gruba göre anlamlı düzeyde daha yüksek, fakat değişken DOS PGE $_2$ konsantrasyonlarına sahip olduğunu bildirmiştir.²¹ Daha sonra 18-36 aylık bir süre boyunca periodontitis hastalarında periodontal durumu ve DOS PGE $_2$ seviyelerini izlemiş ve ortalama DOS PGE $_2$ konsantrasyonlarının, ataşman kaybı olan hastalarda, periodontal olarak stabil kalan hastalara kıyasla anlamlı oranda yükseldiğini rapor etmiştir.¹⁷ DOS PGE $_2$ 'de gözlenen bu lokal yükselmeler yüksek oranda sensitivite ve spesifite göstererek klinik olarak periodontal hastalık progresyonunun öngörülebilmesini sağlamıştır. Bugüne kadar yapılan araştırmalar, DOS PGE $_2$ seviyelerinin, gingivitis ve periodontitisin güçlü bir belirteci olduğunu ve periodontal hastalığın şiddeti ile ilişkili olduğunu göstermiştir.^{58,59} Aynı zamanda, yüksek tükürük PGE $_2$ seviyeleri de periodontal hastalık ile ilişkili bulunmuştur.⁶⁰⁻⁶² Bu kanıtlara göre; sağlıklı kontrollerle karşı-

laştırıldığında periodontal hastalığı olan bireylerin PGE₂ seviyeleri anlamlı oranda yüksek olmakla birlikte, bu seviyeler hastalık şiddeti ile pozitif korelasyon göstermekte ve progresif periodontal doku yıkımının önemli bir göstergesini oluşturmaktadır.

SONUÇ

Araşidonik asit ve PG'lerin periodontal hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynadığı açıktır. COX-2 sentezi-

nin yükselmesi nedeniyle artan PGE₂ üretimi, periodontal inflamasyonda ve alveol kemiği yıkımında kritik öneme sahiptir. Kanıtlar, PGE₂'nin periodontal dokularda kemik oluşumunu da uyardığını öne sürmekle birlikte, daha güçlü kanıtlar periodontitisteki ana rolünün kemik yıkımı olduğunu göstermektedir. Bu noktada, bu metabolitlerin temel hücrel mekanizmalarını anlamak, araşidonik asit metabolizma yollarının kilit noktalarında yeni ilaçlar geliştirilmesine ve periodontal hastalığın daha iyi yönetilmesine olanak verecektir.

KAYNAKLAR

1. Freire MO, Van Dyke TE. Natural resolution of inflammation. *Periodontol* 2000. 2013;63(1):149-64.
2. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol*. 1997;14:33-53.
3. Paquette DW, Williams RC. Modulation of host inflammatory mediators as a treatment strategy for periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 2000;24:239-52.
4. Noguchi K, Ishikawa I. The roles of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2007;43:85-101.
5. Kantarci A, Van Dyke TE. Lipoxin signaling in neutrophils and their role in periodontal disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2005;73(3-4):289-99.
6. Kelley DS. Modulation of human immune and inflammatory responses by dietary fatty acids. *Nutrition*. 2001;17(7-8):669-73.
7. Harizi H, Corcuff JB, Gualde N. Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology. *Trends Mol Med*. 2008;14(10):461-9.
8. Wang B, Wu L, Chen J, Dong L, Chen C, Wen Z, et al. Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):94.
9. Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, Gupta RA, Simon LS, Van De Putte LB, et al. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J*. 1998;12(12):1063-73.
10. O'Banion MK. Cyclooxygenase-2: molecular biology, pharmacology, and neurobiology. *Crit Rev Neurobiol*. 1999;13(1):45-82.
11. Samuelsson B. An elucidation of the arachidonic acid cascade. Discovery of prostaglandins, thromboxane and leukotrienes. *Drugs*. 1987;33 Suppl 1:2-9.
12. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 1997;14:112-43.
13. Mendieta CF, Reeve CM, Romero JC. Biosynthesis of prostaglandins in gingiva of patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*. 1985;56(1):44-7.
14. Löning T, Albers HK, Lisboa BP, Burkhardt A, Caselitz J. Prostaglandin E and the local immune response in chronic periodontal disease. Immunohistochemical and radioimmunological observations. *J Periodontal Res*. 1980;15(5):525-35.
15. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2014;64(1):57-80.
16. Pouliot M, Clish CB, Petasis NA, Van Dyke TE, Serhan CN. Lipoxin A(4) analogues inhibit leukocyte recruitment to *Porphyromonas gingivalis*: a role for cyclooxygenase-2 and lipoxins in periodontal disease. *Biochemistry*. 2000;39(16):4761-8.
17. Offenbacher S, Odle BM, Van Dyke TE. The use of crevicular fluid prostaglandin E2 levels as a predictor of periodontal attachment loss. *J Periodontal Res*. 1986;21(2):101-12.
18. Morton RS, Dongari-Bagtzoglou AI. Cyclooxygenase-2 is upregulated in inflamed gingival tissues. *J Periodontol*. 2001;72(4):461-9.
19. Goodson JM, Dewhirst FE, Brunetti A. Prostaglandin E2 levels and human periodontal disease. *Prostaglandins*. 1974;6(1):81-5.
20. 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(5):327-33.
21. Offenbacher S, Odle BM, Gray RC, 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):1-13.
22. Dietrich JW, Goodson JM, Raisz LG. Stimulation of bone resorption by various prostaglandins in organ culture. *Prostaglandins*. 1975;10(2):231-40.
23. Richards D, Rutherford RB. The effects of interleukin 1 on collagenolytic activity and prostaglandin-E secretion by human periodontal-ligament and gingival fibroblast. *Arch Oral Biol*. 1988;33(4):237-43.
24. Noguchi K, Iwasaki K, Shitashige M, Endo H, Kondo H, Ishikawa I. Cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin E2 down-regulates intercellular adhesion molecule-1 expression via EP2/EP4 receptors in interleukin-1beta-stimulated human gingival fibroblasts. *J Dent Res*. 2000;79(12):1955-61.
25. Yucel-Lindberg T, Ahola H, Nilsson S, Carlstedt-Duke J, Modéer T. Interleukin-1 beta induces expression of cyclooxygenase-2 mRNA in human gingival fibroblasts. *Inflammation*. 1995;19(5):549-60.
26. Yucel-Lindberg T, Ahola H, Carlstedt-Duke J, Modéer T. Involvement of tyrosine kinases on cyclooxygenase expression and prostaglandin E2 production in human gingival fibroblasts stimulated with interleukin-1beta and epidermal growth factor. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257(2):528-32.
27. Hayashi Y, Kobayashi M, Kuwata H, Atsumi G, Deguchi K, Feng Wei X, et al. Interferon-gamma and interleukin 4 inhibit interleukin 1beta-induced delayed prostaglandin E(2)generation through suppression of cyclooxygenase-2 expression in human fibroblasts. *Cytokine*. 2000;12(6):603-12.
28. Fukushima H, Jimi E, Okamoto F, Motokawa W, Okabe K. IL-1-induced receptor activator of NF-kappa B ligand in human periodontal ligament cells involves ERK-dependent PGE2 production. *Bone*. 2005;36(2):267-75.
29. Shimizu N, Ozawa Y, Yamaguchi M, Goseki T, Ohzeki K, Abiko Y. Induction of COX-2 expression by mechanical tension force in human periodontal ligament cells. *J Periodontol*. 1998;69(6):670-7.

30. Yamaguchi M, Garlet GP. The role of inflammation in defining the type and pattern of tissue response in orthodontic tooth movement. In: Krishnan V, Davidovich Z, eds. *Biological Mechanisms of Tooth Movement*. United Kingdom: Wiley Blackwell; 2015. p.121-37.
31. Takigawa M, Takashiba S, Takahashi K, Arai H, Kurihara H, Murayama Y. Prostaglandin E2 inhibits interleukin-6 release but not its transcription in human gingival fibroblasts stimulated with interleukin-1 beta or tumor necrosis factor-alpha. *J Periodontol*. 1994;65(12):1122-7.
32. Narumiya S, FitzGerald GA. Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. *J Clin Invest*. 2001;108(1):25-30.
33. Noguchi K, Shitashige M, Endo H, Kondo H, Ishikawa I. Binary regulation of interleukin (IL)-6 production by EP1 and EP2/EP4 subtypes of PGE2 receptors in IL-1beta-stimulated human gingival fibroblasts. *J Periodontol Res*. 2002;37(1):29-36.
34. Miyaura C, Inada M, Suzawa T, Sugimoto Y, Ushikubi F, Ichikawa A, et al. Impaired bone resorption to prostaglandin E2 in prostaglandin E receptor EP4-knockout mice. *J Biol Chem*. 2000;275(26):19819-23.
35. Ruwanpura SM, Noguchi K, Ishikawa I. Prostaglandin E2 regulates interleukin-1beta-induced matrix metalloproteinase-3 production in human gingival fibroblasts. *J Dent Res*. 2004;83(3):260-5.
36. Yan M, Noguchi K, Ruwanpura SM, Ishikawa I. Cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin (PG) E2 downregulates matrix metalloproteinase-3 production via EP2/EP4 subtypes of PGE2 receptors in human periodontal ligament cells stimulated with interleukin-1alpha. *J Periodontol*. 2005;76(6):929-35.
37. Noguchi K, Ruwanpura SM, Yan M, Yoshida N, Ishikawa I. Down-regulation of interleukin-1alpha-induced matrix metalloproteinase-13 expression via EP1 receptors by prostaglandin E2 in human periodontal ligament cells. *Oral Microbiol Immunol*. 2005;20(1):56-9.
38. Pentland AP, Shapiro SD, Welgus HG. Agonist-induced expression of tissue inhibitor of metalloproteinases and metalloproteinases by human macrophages is regulated by endogenous prostaglandin E2 synthesis. *J Invest Dermatol*. 1995;104(1):52-7.
39. Hikiji H, Takato T, Shimizu T, Ishii S. The roles of prostanoids, leukotrienes, and platelet-activating factor in bone metabolism and disease. *Prog Lipid Res*. 2008;47(2):107-26.
40. Klein DC, Raisz LG. Prostaglandins: stimulation of bone resorption in tissue culture. *Endocrinology*. 1970;86(6):1436-40.
41. Shoji M, Tanabe N, Mitsui N, Tanaka H, Suzuki N, Takeichi O, et al. Lipopolysaccharide stimulates the production of prostaglandin E2 and the receptor Ep4 in osteoblasts. *Life Sci*. 2006;78(17):2012-8.
42. Kwan Tat S, Padrines M, Théoleyre S, Heymann D, Fortin Y. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2004;15(1):49-60.
43. Suda K, Udagawa N, Sato N, Takami M, Itoh K, Woo JT, et al. Suppression of osteoprotegerin expression by prostaglandin E2 is crucially involved in lipopolysaccharide-induced osteoclast formation. *J Immunol*. 2004;172(4):2504-10.
44. Choi BK, Moon SY, Cha JH, Kim KW, Yoo YJ. Prostaglandin E(2) is a main mediator in receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand-dependent osteoclastogenesis induced by *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Treponema socranskii*. *J Periodontol*. 2005;76(5):813-20.
45. Miyauchi M, Ijuhin N, Nikai H, Takata T, Ito H, Ogawa I. Effect of exogenously applied prostaglandin E2 on alveolar bone loss--histometric analysis. *J Periodontol*. 1992;63(5):405-11.
46. Sakuma Y, Tanaka K, Suda M, Yasoda A, Natsui K, Tanaka I, et al. Crucial involvement of the EP4 subtype of prostaglandin E receptor in osteoclast formation by proinflammatory cytokines and lipopolysaccharide. *J Bone Miner Res*. 2000;15(2):218-27.
47. Li X, Okada Y, Pilbeam CC, Lorenzo JA, Kennedy CR, Breyer RM, et al. Knockout of the murine prostaglandin EP2 receptor impairs osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology*. 2000;141(6):2054-61.
48. Suzawa T, Miyaura C, Inada M, Maruyama T, Sugimoto Y, Ushikubi F, et al. The role of prostaglandin E receptor subtypes (EP1, EP2, EP3, and EP4) in bone resorption: an analysis using specific agonists for the respective EPs. *Endocrinology*. 2000;141(4):1554-9.
49. Kanzaki H, Chiba M, Shimizu Y, Mitani H. Periodontal ligament cells under mechanical stress induce osteoclastogenesis by receptor activator of nuclear factor kappaB ligand up-regulation via prostaglandin E2 synthesis. *J Bone Miner Res*. 2002;17(2):210-20.
50. Nukaga J, Kobayashi M, Shinki T, Song H, Takada T, Takiguchi T, et al. Regulatory effects of interleukin-1beta and prostaglandin E2 on expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand in human periodontal ligament cells. *J Periodontol*. 2004;75(2):249-59.
51. Tiranathanagul S, Yongchaitrakul T, Pattamapun K, Pavasant P, Actinobacillus actinomycetemcomitans lipopolysaccharide activates matrix metalloproteinase-2 and increases receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand expression in human periodontal ligament cells. *J Periodontol*. 2004;75(12):1647-54.
52. Sakata M, Shiba H, Komatsuzawa H, Fujita T, Uchida Y, Yoshino H, et al. Osteoprotegerin levels increased by interleukin-1beta in human periodontal ligament cells are suppressed through prostaglandin E(2) synthesized de novo. *Cytokine*. 2002;18(3):133-9.
53. Millet I, McCarthy TL, Vignery A. Regulation of interleukin-6 production by prostaglandin E2 in fetal rat osteoblasts: role of protein kinase A signaling pathway. *J Bone Miner Res*. 1998;13(7):1092-100.
54. Liu XH, Kirschenbaum A, Yao S, Levine AC. Cross-talk between the interleukin-6 and prostaglandin E(2) signaling systems results in enhancement of osteoclastogenesis through effects on the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-(kappa)B (RANK) ligand/RANK system. *Endocrinology*. 2005;146(4):1991-8.
55. Park YG, Kang SK, Noh SH, Park KK, Chang YC, Lee YC, et al. PGE2 induces IL-1beta gene expression in mouse osteoblasts through a cAMP-PKA signaling pathway. *Int Immunopharmacol*. 2004;4(6):779-89.
56. Tanabe N, Maeno M, Suzuki N, Fujisaki K, Tanaka H, Ogiso B, et al. IL-1 alpha stimulates the formation of osteoclast-like cells by increasing M-CSF and PGE2 production and decreasing OPG production by osteoblasts. *Life Sci*. 2005;77(6):615-26.
57. Kim CH, Park YG, Noh SH, Kim YK. PGE2 induces the gene expression of bone matrix metalloproteinase-1 in mouse osteoblasts by cAMP-PKA signaling pathway. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005;37(2):375-85.
58. Heasman PA, Lauffart BL, Preshaw PM. Crevicular fluid prostaglandin E2 levels in periodontitis-resistant and periodontitis-susceptible adults. *J Clin Periodontol*. 1998;25(12):1003-7.
59. Kumar AK, Reddy NR, Babu M, Kumar PM, Reddy VS, Chavan CV. Estimation of prostaglandin E2 levels in gingival crevicular fluid in periodontal health, disease and after treatment. *Contemp Clin Dent*. 2013;4(3):303-6.
60. Syndergaard B, Al-Sabbagh M, Kryscio RJ, Xi J, Ding X, Ebersole JL, et al. Salivary biomarkers associated with gingivitis and response to therapy. *J Periodontol*. 2014;85(8):e295-303.
61. Gümüş P, Öztürk VÖ, Bozkurt E, Emingil G. Evaluation of the gingival inflammation in pregnancy and postpartum via 25-hydroxy-vitamin D3, prostaglandin E2 and TNF-alpha levels in saliva. *Arch Oral Biol*. 2016;63:1-6.
62. Sánchez GA, Miozza VA, Delgado A, Busch L. Salivary IL-1β and PGE2 as biomarkers of periodontal status, before and after periodontal treatment. *J Clin Periodontol*. 2013;40(12):1112-7.