

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**PERİODONTAL HASTALIKLARDA DİŞETİ OLUĞU  
SIVISINDA *CYSTEINE RICH PROTEIN 61*, *INTERLEUKIN-12* VE  
*INTERLEUKIN-1 BETA* SEVİYELERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Meltem TANRIVERDİ**

**UZMANLIK TEZİ**

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**Danışman  
Prof. Dr. Sema HAKKI**

**KONYA-2019**

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**PERİODONTAL HASTALIKLARDA DİŞETİ OLUĞU  
SIVISINDA *CYSTEINE RICH PROTEIN 61*, *INTERLEUKIN-12* VE  
*INTERLEUKIN-1 BETA* SEVİYELERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Meltem TANRIVERDİ**


**UZMANLIK TEZİ**

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**Danışman  
Prof. Dr. Sema HAKKI**

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 18102039 proje numarası ile desteklenmiştir.

**KONYA-2019**

|  |                             |                     |              |
|--|-----------------------------|---------------------|--------------|
| <br>SELCUK UNIVERSITESI<br>DİŞ HİREMİLİĞİ FAKÜLTESİ | UZMANLIK TEZİ JÜRİ TUTANAĞI | Dok.Kodu            | KU.FR.57     |
|  |                             | Yürürlüğe Gir. Tar. | Haziran 2015 |
|  |                             | Revizyon No         | 00           |
|  |                             | Revizyon Tarihi     |              |
|  |                             | Sayfa No            | 1 / 1        |

Uzmanlık Öğrencisinin Adı Soyadı : Dt.Meltem TANRIVERDİ

Uzmanlık Dalı : Periodontoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı : Prof.Dr.Scma S.HAKKI

Tezin Adı : Periodontal Hastalıklarda Dişeti Oluğu Sıvısında  
Cysteine Rich Protein 61 (CYR61), Interleukin-12 (IL-12) Ve Interleukin-1  $\beta$ (IL-1  $\beta$ )  
Seviyelerinin Değerlendirilmesi E  $\beta$

Dt.Meltem TANRIVERDİ hazırlamış olduğu tezini 23.07.2019 tarihinde aşağıda isimleri yazılı olan jüri huzurunda savunmuştur.

SONUÇ: TEZ BAŞARILI  TEZ YETERSİZ ( )

Jüri Prof. Dr. Selma Hakkı Prof. Dr. Melikör P. D. Tamer Aktuğlu  
P. Saad

## ÖNSÖZ

Doğru yönde ilerleyebilmemi ve doğru bir bakış açısı kazanmamı sağlayan, tezimin planlanması, yürütülmesi ve bu aşamaya gelebilmesinde büyük katkı ve emeği olan tez danışmanım Prof. Dr. Sema HAKKI'ya,

Çalışmamın başlangıcında bana yol gösteren, değerli tecrübelerini paylaşan ve mesleki anlamda gelişmemde katkısı olan Prof. Dr. Mehtikar GÜRSEL'e

Uzmanlık eğitimim süresince hiçbir zaman benden desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, son ana kadar her vakada görünür veya görünmez bir elle başarıya ulaşmamı sağlayan hocalarım Prof. Dr. Tamer ATAÖĞLU'na ve Prof. Dr. İsmail MARAKOĞLU'na,

Çalışmamın sonuçlarının yorumlanmasında değerli bilgilerini paylaşan Forsyte Institute'den Prof. Dr. Alpdoğan KANTARCI'ya,

Uzmanlık eğitimim boyunca her sabah enerji dolu bir günaydın deme motivasyonunu bana veren değerli arkadaşlarım E. Elif MUTAFCILAR'a, Sefa AYDINDOĞAN'a ve M. Semih VELİOĞLU'na,

Bölümdeki tüm asistan arkadaşlarıma,

Tezimin istatistik analizlerinde bana yardımcı olan Dr. M. Kazım KÖREZ'e,

Laboratuvar incelemelerinde yardımcı olan Niyazi DÜNDAR'a,

Bu noktaya gelmemde bana her zaman destek olan, beni yetiştiren, her tökezlediğimde arkamda durup bana devam etme gücü veren annem İlkey EYİCİ'ye, babam Yakup EYİCİ'ye ve hayattaki en hakiki dostum olan canım kardeşim Gizem EYİCİ'ye,

Bu süreçte ihtiyaç hissettiğim her anda sonsuz sevgi ve anlayışıyla yanımda olan sevgili eşim Onur TANRIVERDİ'ye

***Tüm içtenliğimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.***

## İÇİNDEKİLER

|  |            |
|--|------------|
| <b>SİMGELER VE KISALTMALAR .....</b>                       | <b>iii</b> |
| <b>ÖZET.....</b>   | <b>vi</b>  |
| <b>SUMMARY .....</b>                                       | <b>vii</b> |
| <b>1.GİRİŞ .....</b>                                       | <b>1</b>   |
| 1.1.Periodontal Hastalıkların Sınıflaması.....             | 4          |
| 1.2.Periodontal Hastalığın Patogenezi.....                 | 10         |
| 1.3.Sitokinler .....                                       | 14         |
| 1.3.1. <i>Interleukin 1 Beta</i> (IL-1 $\beta$ ).....      | 15         |
| 1.3.2. <i>Interleukin 12</i> (IL-12).....                  | 17         |
| 1.3.3. <i>Cysteine Rich Protein 61</i> (CCN1/CYR61).....   | 18         |
| 1.4.Dişeti Oluşu Sıvısı (DOS).....                         | 18         |
| <b>2.GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                              | <b>22</b>  |
| 2.1.Klinik Periodontal Değerlendirme .....                 | 23         |
| 2.2.DOS Örneklerinin Elde Edilmesi .....                   | 24         |
| 2.3.Biyokimyasal Değerlendirme.....                        | 25         |
| 2.4.Verilerin İstatistiksel Analizi.....                   | 26         |
| <b>3.BULGULAR.....</b>                                     | <b>28</b>  |
| 3.1.Demografik Bulgular.....                               | 28         |
| 3.2.Klinik Parametrelere İlişkin Bulgular .....            | 29         |
| 3.2.1.Tüm Ağız Klinik Parametreler .....                   | 29         |
| 3.2.2.Örnekleme Bölgelerine ait Klinik Parametreler .....  | 30         |
| 3.3.Biyokimyasal Parametreler .....                        | 31         |
| 3.4.Klinik ve Biyokimyasal Parametrelerin Korelasyonu..... | 37         |
| <b>4.TARTIŞMA .....</b>                                    | <b>39</b>  |
| <b>5.SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>                            | <b>49</b>  |
| <b>6.KAYNAKLAR .....</b>                                   | <b>50</b>  |
| <b>7.EKLER.....</b>  | <b>59</b>  |
| <b>8.ÖZGEÇMİŞ.....</b>                                     | <b>61</b>  |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

*A. actinomycetemcomitans*: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

AAP: *American Academy of Periodontology*

AKS: Akut Koroner Sendrom

APH: Anahtar-Patojen Hipotezi

*C. rectus*: *Campylobacter rectus*

CCN1/CYR61: *Cysteine rich protein 61*

DOS: Dişeti oluğu sıvısı

*E. corrodens*: *Eikenella corrodens*

EFP: *European Federation of Periodontology*

EPH: Ekolojik Plak Hipotezi

*F. nucleatum*: *Fusobacterium nucleatum*

FLS: Fibroblast benzeri sinoviyosit

Gİ: Gingival indeks

IFN- $\gamma$ : *Interferon gamma*

IL-1 $\alpha$ : *Interleukin-1 alpha*

IL-1 $\beta$ : *Interleukin-1 beta*

IL-10: *Interleukin-10*

IL-6: *Interleukin-6*

KAK: Klinik ataçman kaybı

KAS: Klinik ataçman seviyesi

|                       |   |
|-----------------------|---|
| kDa:                  | Kilodalton  |
| LPS:                  | Lipopolisakkarit  |
| MMP:                  | Matrix metalloproteinaz                                 |
| NSPH:                 | Non-Spesifik Plak Hipotezi                              |
| OPG:                  | Osteoprotegerin   |
| <i>P. gingivalis:</i> | <i>Porphyromonas gingivalis</i>                         |
| <i>P. intermedia:</i> | <i>Prevotella intermedia</i>                            |
| <i>P. micros:</i>     | <i>Peptostreptococcus micros</i>                        |
| PDL:                  | Periodontal ligament                                    |
| PGE <sub>2</sub> :    | Prostaglandin E <sub>2</sub>                            |
| Pİ:                   | Plak indeksi  |
| PMNL:                 | Polimorfonükleer lökositler                             |
| RA:                   | Romatoid Artrit   |
| RANK:                 | <i>Receptor activator Nuclear Factor Kappa B</i>        |
| RANKL:                | <i>Receptor activator Nuclear Factor Kappa B ligand</i> |
| SCD:                  | Sondlama cep derinliği                                  |
| SK:                   | Sondlamada kanama                                       |
| SLE:                  | Sistemik Lupus Eritematozus                             |
| SPH:                  | Spesifik Plak Hipotezi                                  |
| SS:                   | Sjögren Sendromu  |
| <i>T. denticola:</i>  | <i>Treponema denticola</i>                              |

|                      |  |
|----------------------|--|
| <i>T. forsythia:</i> | <i>Tannerella forsythia</i>              |
| TGF- $\beta$ 1:      | <i>Transforming Growth Factor Beta 1</i> |
| Th:                  | <i>T helper</i>                          |
| TNF- $\alpha$ :      | <i>Tumor necrosis factor alpha</i>       |
| VKİ:                 | Vücut-Kitle İndeksi                      |





## ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

### PERİODONTAL HASTALIKLARDA DİŞETİ OLUĞU SIVISINDA *CYSTEINE RICH PROTEIN 61, INTERLEUKIN-12 VE INTERLEUKIN-1 BETA SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ*

Meltem TANRIVERDİ, Periodontoloji Anabilim Dalı

UZMANLIK TEZİ / KONYA-2019

Periodontal hastalık patojenik mikroorganizmalarının varlığı ile periodontal dokularda kronik enflamasyona sebep olan, proenflamatuvar ve anti-enflamatuvar sitokinler arasındaki dengenin bozulması ile enflamasyon şiddetinin artarak ilerleyebileceği bir hastalıktır. Dişeti oluşu sıvısı (DOS)'nın analizi ile bu sitokinlerin tayini yapılabilmekte ve hastalığın aktivitesi hakkında bilgi edinilebilmektedir. Bu çalışmada periodontal sağlık, gingivitis ve periodontal hastalıkta, DOS *Cysteine rich protein 61* (CYR61), *Interleukin-12* (IL-12) ve *Interleukin-1 $\beta$*  (IL-1 $\beta$ ) sitokin düzeylerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran sistemik olarak sağlıklı ve sigara içmeyen, klinik ve radyografik olarak periodontal sağlık (n=24), gingivitis (n=25) ve periodontitis (n=25) teşhisi konulmuş toplam 74 birey dahil edildi. Klinik periodontal ölçümler sonrası her yarım çenede bir diş olmak üzere toplam dört diştan kağıt stripler ile DOS örnekleri toplandı. Örneklerin hacim ölçümleri *Periotron* cihazı ile yapıldıktan sonra stripler tek *Eppendorf* tüpe toplanarak ELISA yöntemi ile analiz edildi.

Çalışma sonucunda IL-1 $\beta$  ve IL-12 seviyelerinin, periodontitis grubunda sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu ve klinik parametreler ile pozitif korelasyon gösterdiği saptandı. Sonuçlar incelendiğinde CYR61 seviyelerinin sağlıklı grupta en yüksek, gingivitis grubunda en düşük olduğu gözlemlendi ve bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi. Bununla birlikte CYR61 ile klinik parametreler arasında korelasyon tespit edilmedi.

Bu çalışmanın sonuçları, DOS'taki IL-1 $\beta$  ve IL-12 sitokin düzeylerinin periodontal sağlık ve hastalık için belirleyici olabildiğini göstermektedir. Proenflamatuvar bir sitokin olarak bilinen CYR61'in sağlıklı grupta daha yüksek seviyelerde tespit ediliyor olması, bu sitokinin anjiyogenez ve bağdokusu remodasyonunda da rol almasından dolayı periodontal hastalıkta başka mekanizmalar ile birlikte çalışıyor olabileceğini düşündürmekte ve tam rolünün anlaşılması için tedavi öncesi sonrası kıyaslamaların yapıldığı ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Cysteine rich protein 61, dişeti oluşu sıvısı, gingivitis, interleukin-12, periodontitis

## **SUMMARY**

REPUBLIC of TURKEY

SELCUK UNIVERSITY

FACULTY of DENTISTRY

### **EVALUATION OF CYSTEINE RICH PROTEIN 61, INTERLEUKIN-12 AND INTERLEUKIN-1 BETA LEVELS IN GINGIVAL CREVICULAR FLUID IN PERIODONTAL DISEASE**

**Meltem TANRIVERDİ, Department of Periodontology**

**THESIS / KONYA-2019**

Periodontal disease causes chronic inflammation in periodontal tissues in the presence of pathogenic microorganisms. Periodontal disease progression depends on the severity of inflammation that caused by imbalance between proinflammatory and antiinflammatory cytokines. Analysis of cytokine levels in gingival crevicular fluid (GCF) can provide information about the activity of the disease. The aim of this study was to determine the GCF levels of Cysteine rich protein 61 (CYR61), Interleukin-12 (IL-12) and Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) in periodontal health, gingivitis and periodontal disease.

Systemically healthy and nonsmoker 74 individuals who applied Selcuk University Faculty of Dentistry, radiographically and clinically diagnosed as periodontally healthy (n=24), gingivitis (n=25) and periodontitis (n=25) were included in this study. After clinical periodontal measurements, GCF samples were collected from four teeth, one tooth in each quadrant. The volumetric measurements of the GCF were performed with the Periotron device, and the strips were collected in a single Eppendorf tube then samples were analyzed by ELISA method.

As a result of the analysis of collected data, IL-1 $\beta$  and IL-12 levels were found significantly higher in the periodontitis group compared to the healthy group and these cytokines showed positive correlation with the clinical parameters. And data showed that CYR61 levels were highest in the healthy group and the lowest in the gingivitis group and there was a statistically significant difference between these groups. However, no correlation was found between CYR61 and clinical parameters.

The results of this study show that IL-1 $\beta$  and IL-12 cytokine levels in GCF can be determinant for periodontal health and disease. As a proinflammatory cytokine, CYR61 gcf levels were found higher in the healthy group may caused by involvement in angiogenesis and connective tissue remodeling so that this cytokine may be working with other mechanisms in periodontal disease. Further studies including pre- and post-treatment comparisons are needed to fully understand its role.

Key words: Cysteine rich protein 61, gingival crevicular fluid, gingivitis, interleukin-12, periodontitis

## 1. GİRİŞ

Periodontal hastalıklar, alveoler kemiğin rezorpsiyonu, periodontal ligament (PDL) liflerinin lizisi, dişeti bağ dokularında kollajen kalitesinde ve miktarında değişiklikler ve epitelyal ataçmanın apikale göçü ile seyreden; patojenik mikrofloranın periodonsiyumda neden olduğu yaygın enflamatuvar bozuklukları tarif eden durumlardır (Patini ve ark 2018). 1900'lü yılların başlarında, plak ve mikroorganizmaların periodontal hastalık etiyojisindeki rolü farklı bir bakış açısıyla değerlendirilmekteydi. Periodontal hastalığın bireylerdeki bazı yapısal kusurlarla bağlantılı olduğu, bunun yanı sıra diştaşı ve taşkın restorasyonlar gibi mekanik iritasyonların da periodontal hastalığın patogeneğinde önemli bir rol oynadığı düşünülmekteydi. Periodontal hastalıkların bakteriyel etiyojiye sahip hastalıklar olduğuna dair kanıtlar, ilk olarak 1960'ların ortalarında insanlarda yapılan deneysel dişeti iltihabı çalışmalarında gösterilmiştir (Loe ve ark 1965).

Periodontal hastalık etiyojisine açıklık getirmek adına ortaya ilk olarak *Non-Spesifik Plak Hipotezi* (NSPH) öne sürülmüştür (Schultz-Haudt ve ark 1954). Bu hipotezde; hastalığın mevcut subgingival mikroorganizma miktarının belirli bir eşige ulaşması ile ortaya çıkan fiziksel kütlelerinden kaynaklandığı savunulmaktadır (Loesche 1976). Hastalık plak mikroflorasının genel aktivitesinin sonucudur ve tedavide ana unsur plağın ortadan kaldırılmasıdır. Plağın mikrobiyal kompozisyonundaki değişikliklerin patojenik potansiyel için etkileri olabileceği düşünülmemektedir. Fakat bu teori bazı hastalarda veya bazı bölgelerde yavaş ya da hızlı ilerleyen kronik enflamatuvar periodontal hastalık görülürken, bazılarında ise yaşam boyu herhangi bir yıkım görülmeksizin gingivitten öteye geçememesini açıklamakta yetersiz kalmaktadır (Theilade 1986). Devam eden süreçte, bu duruma plak bakterilerinin bazılarının patojen olabileceği düşüncesiyle açıklık getirilmeye çalışılmış ve spesifik bakteri türlerinin periodontal hastalık için nedensel olduğunu öne süren *Spesifik Plak Hipotezi* (SPH) önerilmiştir (Loesche 1976). Bu hipotez ile etken patojen bakteriler saptanmaya çalışılmış ve antibiyotik kullanımı ile plağı ortadan kaldırmanın zorunluluğu olmadan hastalığın tedavi edilebileceği öne sürülmüştür.

Periodontal mikrobiyolojinin anlaşılmasındaki kritik gelişme ise, plakların, birbirlerine ve/veya yüzeylere yapışan, matriksi içerisinde ilkel bir homeostaz,

atıkların giderildiği ve beslenmenin gerçekleştirildiği bir dolaşım sistemine sahip, bakteri popülasyonları olarak tanımlanabilen biyofilm yapısının tanımlanması ile olmuştur (Costerton ve ark 1995, Page 1999). Bu gelişme ile birlikte yerleşik mikroflora ile konak arasındaki dinamik ilişkinin ekolojik açıdan sağlık ve hastalıkta tanımlanması ve açıklanması adına, NSPH ve SPH'nin temel öğelerini uzlaştıran *Ekolojik Plak Hipotezi* (EPH) adıyla alternatif bir hipotez önerilmiştir (Haffajee ve ark 1991, Marsh ve ark 2011). Hipotez, besinlerin ve temel kofaktörlerin varlığı, pH ve redoks potansiyeli gibi ekolojik faktörlerdeki değişiklikler ve bakterilerin hastalık gelişiminde önemli belirleyiciler olduğunu; hastalığın mikroflorada ekolojik strese bağlı dengesizliğin bir sonucu olarak bazı mikroorganizmaların zenginleşmesine yol açtığını savunmaktadır (Marsh 2003). Fakat EPH, diğer hipotezlerde olduğu gibi dental plağın bileşimine ve hastalığa yatkınlığa önemli ölçüde katkıda bulunan konağın genetik faktörlerinin rolünü ele almamaktadır (Mason ve ark 2013).

Son yıllarda Hajishengallis ve arkadaşları *Porphyromonas gingivalis*'in (*P. gingivalis*) özelliklerini gözlemleyerek geliştirdikleri, plak içerisinde bulunan bazı düşük miktardaki mikrobiyal patojenlerin ve normal mikrobiyotaya miktarını artırarak ayrıca da mikrobiyotaya bileşimini değiştirerek enflamatuvar hastalığa neden olabileceğini savunan *Anahtar-Patojen Hipotezi*'ni (APH) önermişlerdir (Hajishengallis ve ark 2011). Farelerde yapılan çalışmalarda *P. gingivalis*'in konağın doğal immün sistemini manipüle edebildiği, çok düşük miktarlarda varlığının dahi plak bileşimini değiştirerek periodontitise yol açabileceğini gösterilmiştir (Hajishengallis ve ark 2011). Ayrıca kilit patojen olarak görev yapan *P. gingivalis*'in kanıtı tavşan modellerinde ve primatlarda da elde edilmiştir (Hasturk ve ark 2007, Page ve ark 2007). *Germ-free* farelerde yapılan bir çalışmada *P. gingivalis*'in kolonize olabildiği fakat başka bakteri türlerinin varlığı olmadan hastalık geliştiremediği gözlemlenmiştir (Hajishengallis ve ark 2011). Bu bulgular periodontitisin gelişmesi için duyarlı konakçının zorunlu bir önkoşul olduğunu ancak kommensal mikrobiyotanın da hastalık sürecinde gerekliliğini desteklemektedir.

Ağız, vücudun tüm dış yüzeyleri ve bağırsaklar gibi sağlıklı bir konakçı ile simbiyozda yaşayan yüzlerce aerobik ve anaerobik bakteri türü içeren önemli bir mikrofloraya sahiptir. Böyle bir habitattaki önemli herhangi bir değişiklik, bu bölgedeki yerleşik organizmalar arasındaki dengeyi değiştirerek, mikrobiyal

homeostatik mekanizmaların bozulmasına neden olabilir. Periodontitis, subgingival mikrofloranın Gram (+) aerobik, hareketli olmayan bakterilerden, Gram (-) anaerobik, hareketli bakteriler içeren mikrofloraya doğru olan sapmalarından kaynaklanan disbiyotik bir hastalıktır (Ramberg ve ark 2003).

Subgingival plağın 500'den fazla bakteri türü içerdiği ve belirli türlerin sağlıktan hastalığa ilerlemeyi temsil eden mor, sarı, yeşil, mavi, turuncu ve kırmızı renkler ile kodlanmış kompleksler halinde ortaya çıktığı gösterilmiştir (Socransky ve ark 1998). Sarı, mavi, yeşil ve mor kompleksler plak piramidinin tabanı olarak görev yapan öncü kolonizör bakteriler olup, turuncu ve kırmızı kompleksler periodontal hastalık ile ilişkilendirilen geç kolonizörlerdir. Öncü kompleksler periodontal hastalıklar ile ilişkilendirilmese de *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) ve *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*)'yı içeren turuncu kompleksin tutunması için reseptör sağlamakta ve yararlı ekolojik koşullar yaratmaktadır (Bradshaw ve ark 1998). Aerob ve anaerob bakteriler arasında köprü görevi görmekte olan *F. nucleatum*, *P. gingivalis*'in kolonizasyonunu da kolaylaştırmaktadır (Saito ve ark 2009). *P. intermedia* ise kırmızı kompleks bakterilerinin biyofilme retansiyonu için uygun koşullar yaratmaktadır (Bradshaw ve ark 1998).

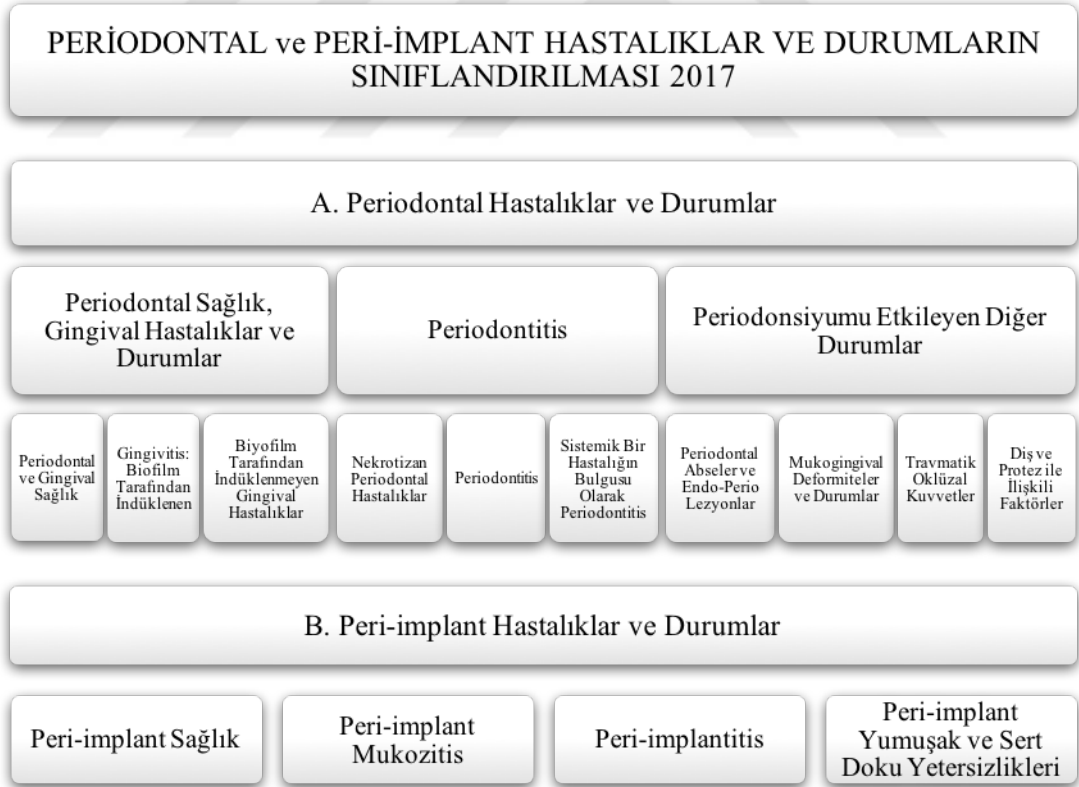
Biyofilm oluşumunda geç kolonizör olarak bilinen kırmızı kompleks bakterileri *P. gingivalis*, *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*) ve *Treponema denticola* (*T. denticola*), sinerjistik virülans ve patojeniteyi ifade etmekte ve doğrudan periodontal hastalık ile ilişkilendirilmektedir (Socransky ve ark 1998). Özellikle *P. gingivalis*, kendi başına epitel hücrelerini istila etme ve periodontal dokularda daha derine nüfuz etme, böylece doğuştan gelen immün tepkileri ortadan kaldırma konusunda iyi tanınan bir kapasiteye sahiptir (Bostanci ve Belibasakis 2012). Yapılan bir çalışmada da periodontitisli hastalarda subgingival plağın, periodontal olarak sağlıklı hastalardan elde edilen plak ile karşılaştırıldığında kırmızı ve turuncu kompleks türlerinin artmış oranda içerdiği gösterilmiştir (Ximenez-Fyvie ve ark 2000).

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), özellikle genç erişkinlerde yaygın olarak periodontal hastalık ile ilişkili başka bir türdür (Newman ve ark 1976). Ek olarak, *F. nucleatum*, *Prevotella* türleri, *Eikenella*

*corrodens* (*E. corrodens*), *Peptostreptococcus micros* (*P. micros*) ve *Campylobacter rectus* (*C. rectus*) derin periodontal ceplerde artmış oranda bulduklarından olası periodontopatojenler olarak gösterilmektedirler (Colombo ve ark 2009).

### 1.1 Periodontal Hastalıkların Sınıflaması

Periodontal hastalıklar farklı etiyolojiler ve klinik belirtileri olan bir grup hastalıktır. Ortak sınıflama sistemleri, klinisyenlerin hastaları doğru şekilde teşhis ve tedavi etmeleri bunun yanı sıra bilim insanlarının etiyoloji, patogenezi, hastalıklar ve durumların tedavisini araştırması için bir gerekliliktir. Aynı zamanda ortak bir dil kullanan sağlık hizmetleri profesyonelleri arasında da etkili iletişime olanak sağlayan yapılardır. Günümüzde periodontal hastalık teşhisinde *American Academy of Periodontology* (AAP) ve *European Federation of Periodontology* (EFP) beraberliğinde yapılmış olan dünya çalıştay ile belirlenmiş ‘*Periodontal ve Peri-implant Hastalık ve Durumların Sınıflandırılması 2017*’ kullanılmaktadır.



Şekil 1.1: Periodontal hastalıkların sınıflaması

Periodontal sağlığın tanımlanması periodontal hastalığın, tedavi sonuçlarının, gelecekteki hastalık gelişimi için bireysel risklerin ve populasyonlarda periodontal hastalık prevalansının değerlendirilebilmesi açısından önemlidir. Mutlak periodontal

sağlık enflamatuvar periodontal hastalıktan arınmış bir durum olarak nitelendirilmektedir. Sondalamada kanama (SK), cep varlığı, ataçman kaybı, radyografik kemik kaybı, ödem, püy formasyonu gibi tüm tanı parametrelerinin negatif olmasının yanı sıra histolojik düzeyde de enflamasyonun gözlenmediği ve periodonsiyumda herhangi bir anatomik değişikliğin izlenmediği bir durumdur.

Mutlak periodontal sağlığın klinik olarak gözlemlenmesi mümkün değildir. Bu sebeple dişeti oluşu sıvısındaki enflamatuvar mediyatörler gibi enflamasyon indikatörlerinin hiç olmadığı ya da çok minimal düzeyde var olduğu; az sayıda izole alanda sondlamada kanama gibi klinik dişeti enflamasyonunun görülebildiği bir durumu tanımlayan '*Klinik Sağlık*' terimi ortaya çıkmıştır (Lang ve Bartold 2018). Klinik sağlık herhangi bir periodontal hastalık başlamadan önce bozulmamış periodonsiyumda var olabileceği gibi anatomik olarak azalmış periodonsiyuma da geri kazandırılabilir.

Çizelge 1.1: Klinik sağlık tanı parametreleri

|                         | BOZULMAMIŞ PERİODONSİYUM | AZALMIŞ PERİODONSİYUM |                      |
|-------------------------|--------------------------|-----------------------|----------------------|
|                         |                          | Non- periodontitis    | Stabil periodontitis |
| ATAÇMAN KAYBI           | -                        | +                     | +                    |
| RADYOGRAFİK KEMİK KAYBI | -                        | +                     | +                    |
| SONDLAMA CEP DERİNLİĞİ  | ≤ 3mm                    | ≤ 3mm                 | ≤ 4mm*               |
| SONDLAMADA KANAMA       | < %10                    | < %10                 | < %10                |

\*Mevcut olan 4mm veya daha derin ceplerin kanamalı olmaması koşulu ile

Sondlamada kanama skoru < %10 olan, ataçman kaybı ve radyografik kemik kaybı gözlemlenmeyen bozulmamış periodonsiyumlu veya periodontitis öyküsü olmaksızın dişeti çekilmesi ya da kuron boyu uzatılması gibi durumlar sonrası ataçman kaybı ve radyografik kemik kaybı gözlenen azalmış periodonsiyumlu (non-periodontitis) bir hastanın klinik anlamda periodontal olarak sağlıklı olduğu düşünülmektedir (Trombelli ve ark 2018). Başarılı bir şekilde tedavi edilmiş periodontitisi (stabil periodontitis) olan azalmış periodonsiyumlu hastalarda ise SK

pozitif bölgelerin sondlama derinliği  $\geq 4$  mm göstermemesi koşuluyla da periodontal sağlık tanımlaması kullanılabilir (Trombelli ve ark 2018).

Gingival hastalıklar iki başlık altında incelenmektedir: (i) dental biyofilm tarafından indüklenen gingivitis, (ii) dental biyofilm tarafından indüklenmeyen gingival hastalıklar (Chapple ve ark 2018).

Dental biyofilmin neden olduğu gingivitis, bölgesel düzeyde biyofilm ile konağın immün enflamatuvar yanıtı arasındaki etkileşimlerden kaynaklanan, dişeti ile sınırlı, mukogingival hattın ötesine ve periodontal bağlantıya (sement, periodontal ligament ve alveoler kemik) uzanmayan enflamatuvar bir lezyon olarak tanımlanmaktadır. Yaygın klinik bulguları eritem, ödem, kanama, hassasiyet ve dişetinde büyüme olarak ortaya çıkmaktadır (Suzuki 1988). Genellikle ağrısızdır, nadiren spontan kanamaya neden olur ve çoğunlukla kişiler hastalığın farkında olmaz. Gingivitis tetiklemek için gerekli olan biyofilm birikim eşiği, bireyler arasında, predispozan faktörler olarak bilinen uyumsuz restorasyon marjinleri, ağız kuruluğu gibi lokal risk faktörlerine ve modifiye edici olarak adlandırılan sigara kullanımı, hamilelik, hiperglisemi gibi sistemik risk faktörlerine göre değişmektedir (Murakami ve ark 2018). Lezyonların spesifik özelliği, biyofilm uzaklaştırıldıktan sonra dokudaki değişikliklerin tam olarak geri dönüşebilir olmasıdır. Epidemiyolojik veriler biyofilm kaynaklı gingivitisin dişli popülasyonlarda her yaşta yaygın olduğunu göstermekte ve periodontal hastalığın en yaygın şekli olarak kabul edilmektedir (Bhat 1991, White ve ark 2012).

Gingivitis, SK skoru kullanılarak basit, nesnel ve doğru bir şekilde tanımlanabilir. SK skoru, mevcut dişlerde altı bölgede (meziobukkal, bukkal, distobukkal, mesiolingual, lingual, distolingual), sulkus / cep tabanı standart bir periodontal sond ile yaklaşık 25 gr'lık kontrollü bir kuvvet ile uyarılarak kanama bölgelerinin oranı olarak değerlendirilmektedir. Yapılan skora sonrası SK  $> \%10$  olan bozulmamış periodonsiyuma sahip hastalar "gingivitis", non-periodontitis hastalarda ise "azalmış periodonsiyumda gingivitis" tanısı konulmaktadır. Başarılı bir şekilde tedavi edilen stabil periodontitis hastalarında ise gingival enflamasyon belirli bölgelerde tekrar ortaya çıkabilir; bu tür hastalarda ilerleyici ataçman kaybı riski yüksek olduğundan yakın takiplerinin yapılması büyük önem arz eder. Bu nedenle



stabil periodontitis hastalarında gingivitis, dişeti sağlığında olduğunun aksine, 4 mm yerine  $\leq 3$  mm'lik sığ bölgede kanama olarak tanımlanmaktadır. Sondlama derinliğinin kanama ile birlikte  $\geq 4$  mm olduğu yerler mevcudiyetinde vaka artık periodontitis olarak isimlendirilmektedir. Azalmış ya da bozulmamış periodonsiyumlu hastalarda % SK değerlendirilmesi sonrası eğer %10 ila %30 arasında ise lokalize gingivitis,  $> \%30$  ise generalize gingivitis olarak adlandırılmaktadır.

Çizelge 1.2: Gingivitis tanı parametreleri

|                            | BOZULMAMIŞ<br>PERİODONSİYUM | AZALMIŞ PERİODONSİYUM |                      |
|----------------------------|-----------------------------|-----------------------|----------------------|
|                            |                             | Non- Periodontitis    | Stabil Periodontitis |
| ATAÇMAN<br>KAYBI           | -                           | +                     | +                    |
| RADYOGRAFİK<br>KEMİK KAYBI | -                           | +                     | +                    |
| SONDLAMA<br>CEP DERİNLİĞİ  | $\leq 3$ mm                 | $\leq 3$ mm           | $\leq 3$ mm          |
| SONDLAMADA<br>KANAMA       | $> \%10$                    | $> \%10$              | $> \%10$             |

Gingivitis periodontitis için önemli bir risk faktörü ve gerekli bir önkoşuldur. Longitudinal çalışmalar, ataçman kaybının ilerlemediği alanlarda zaman içinde daha az dişeti enflamasyonu gözleendiği, buna karşılık ilerleyen alanların sürekli olarak daha yüksek dişeti enflamasyonu seviyelerine sahip olduğunu göstermiştir (Schatzle ve ark 2003, Ramseier ve ark 2017). Bu nedenle periodontitisi önlemede gingivitisin tedavisi birincil stratejidir.

Dental biyofilm tarafından indüklenmeyen gingival hastalıklar, biyofilmden kaynaklanmayan ve uzaklaştırıldıktan sonra genellikle geri dönüşümü olmayan çeşitli lezyonları içermektedir. Bu lezyonlar sıklıkla sistemik bir durumun belirtileridir ve gingival dokularda sınırlı patolojik değişiklikler gösterirler. Her ne kadar biyofilmden kaynaklanmasalar da klinik belirtilerin ciddiyeti çoğu zaman biyofilm varlığına bağlıdır (Stone ve ark 2015). Lezyonların etiyojisine dayanarak; genetik / gelişimsel bozukluklar, spesifik enfeksiyonlar; enflamatuvar ve immün durumlar, reaktif lezyonlar; neoplazmlar, endokrin, beslenme ve metabolik hastalıklar, travmatik lezyonlar ve gingival pigmentasyon başlıkları altında bir sınıflama yapılmıştır (Holmstrup ve ark 2018).

Periodontal ve Peri-implant Hastalık ve Durumların Sınıflaması 2017'ye göre patofizyolojiye dayanarak, üç farklı periodontitis formu tanımlanmıştır: (i) Nekrotizan Periodontal Hastalıklar, (ii) Sistemik bir Hastalığın Bulgusu Olarak Periodontitis, ve (iii) Periodontitis (Tonetti ve ark 2018). Ayırıcı tanı, nekrotizan periodontitisin spesifik belirti ve bulguları ile konakçı immün yanıtını kesin olarak değiştiren nadir bir sistemik hastalığın varlığına veya yokluğuna dayanmaktadır.

Nekrotizan periodontal hastalıklar zayıf ağız hijyeni, sigara, stres, yetersiz beslenme, bozulmuş bağışıklık durumu gibi spesifik altta yatan risk faktörleri olan hastalarda bakteriyel enfeksiyonun neden olduğu, sıklıkla akut ve hızlı tahrip edici seyir gösteren ağır enflamatuvar periodontal hastalıklardır (Herrera ve ark 2018). Nekrotizan gingivitis, nekrotizan periodontitis ve nekrotizan stomatitis olmak üzere aynı hastalık sürecinin çeşitli aşamalarını temsil eden üç formu mevcuttur.

Periodontitis mikrobiyal ilişkili, konakçı kaynaklı enflamasyon ile karakterize bir hastalıktır. Birincil özelliği olan periodontal doku desteğinin kaybı ile birlikte cep formasyonu, süpürasyon, sondlamada kanama gibi klinik bulgular gözlenmektedir. Bir vakaya periodontitis teşhisi konulabilmesi için; komşu olmayan dişlerde interdental bölgede klinik ataçman kaybı (KAK) 2 mm ve üzerinde olmalı ya da iki veya daha fazla dişte sondlama cep derinliğinin (SCD) 3 mm üzerinde olması ile birlikte bukkal veya oral bölgede KAK 3 mm ya da üzeri olarak izlenmelidir (Tonetti ve ark 2018). Değerlendirme yapılırken travmatik kökenli dişeti çekilmesi, servikal bölgeye uzanan diş çürüğü, üçüncü moların malpozisyonu veya ekstraksiyonu ile ilişkili ya da marjinal periodonsiyumdan direne olan endodontik bir lezyon gibi periodontal olmayan nedenlerle oluşan klinik ataçman kayıpları göz önünde bulundurulmamalıdır. Periodontitis teşhisinin kesinleştirilmesi ardından çok boyutlu bir evreleme ve derecelendirme sistemi ile hastalığın ayırıcı özellikleri ortaya konulmaktadır.

Evre periodontitisin şiddet ve kapsamının sınıflandırılmasını ve vakanın karmaşıklığının değerlendirilmesini sağlamaktadır. Hafiften şiddetliye doğru uzanan dört kategoriden (Evre I-IV) oluşmaktadır. Tanı için ilk olarak KAK baz alınmalı, eğer bu veri mevcut değilse radyografik kemik kaybı kullanılmalıdır. Bununla birlikte, hastalığı etkileyen SCD, furkasyon problemleri, kemik kaybının tipi (vertikal ve/veya horizontal), diş mobilitesi gibi karmaşıklık boyutunda başka faktörler bulunuyorsa,

başlangıçta tespit edilen evrenin değiştirilmesi gerekmektedir. Örneğin 4 mm'lik klinik ataçman kaybının mevcut olduğu bir vakada sınıf II veya sınıf III furkasyon tutulumunun saptanması teşhisi *Evre II*'den *Evre III*'e taşımaktadır.

Çizelge 1.3: Periodontitis vakasının evrelendirilmesinde kullanılan parametreler

| Periodontitis Evreleri |                         | Evre I<br>Hafif Periodontitis                         | Evre II<br>Orta<br>Periodontitis | Evre III<br>Şiddetli Periodontitis  | Evre IV<br>Şiddetli<br>Periodontitis   |
|------------------------|-------------------------|---|----------------------------------|---|--|
| Şiddet                 | KAK                     | 1-2 mm  | 3-4 mm                           | ≥ 5 mm  | ≥ 5 mm   |
|                        | Radyografik Kemik Kaybı | Koronal üçlü (<%15)                                   | Koronal Üçlü (%15-%33)           | Kökün ortasına veya apikal üçlüsüne uzanan  | Kökün ortasına veya apikal üçlüsüne uzanan   |
|                        | Diş kaybı               | Periodontal kaynaklı diş kaybı yok                    |                                  | Periodontal kaynaklı diş kaybı ≤ 4 diş  | Periodontal kaynaklı diş kaybı ≥ 5 diş   |
| Kompleks oluşu         | Lokal                   | SCD ≤4mm  | SCD ≤ 5mm                        | Evre II'ye ek olarak:<br>SCD ≥ 6mm<br>Vertikal kemik kaybı ≥ 3mm<br>Furka tutulumu: Sınıf II veya III<br>Orta derece kret defekti | Evre III'e ek olarak:<br>Çiğneme disfonksiyonu<br>Sekonder oklüzal travma (mobilité derecesi ≥2)<br>Şiddetli kret defekti<br>Bite kollaps, drifting, flaring<br>20'den az kalan diş (10 karşıt çift) |
|                        |                         | Genelde horizontal kemik kaybı                        | Genelde horizontal kemik kaybı   |   |  |
| Boyut ve Yayılım       | Tamamlayıcı olarak      | Lokalize (<%30)<br>Generalize<br>Molar-Keser Dağılımı |                                  |   |  |

Derece, periodontitisin ilerlemesinin oranının geçmişe dayalı bir analizini içermekte ve hastalığın biyolojik özellikleri hakkında ek bilgiler sağlamaktadır. Yavaş, orta ve hızlı ilerlemeyi ifade eden sırasıyla A, B ve C olmak üzere üç kategoriden oluşmaktadır. Derece belirlenirken değerlendirme ilk olarak 5 yıl içerisindeki KAK göz önünde bulundurularak yapılmalı fakat bu veri mevcut değilse radyografik olarak izlenen kemik kaybı yüzdesinin hastanın yaşına bölünmesini ifade eden “% Kemik Kaybı / Yaş” oranı dikkate alınmalıdır.

Çizelge 1.4: Periodontitis vakalarının derecelendirilmesi için kullanılan parametreler

| Periodontitis Derecesi     |                          | Derece A:<br>Yavaş hızda ilerleme | Derece B:<br>Orta hızda ilerleme                  | Derece C:<br>Hızlı ilerleme |  |
|----------------------------|--------------------------|-----------------------------------|---|-----------------------------|--|
| Birincil kriter            | Direkt ilerleme kanıtı   | KAK                               | 5 yıldan fazla sürede kayıp yok                   | <2mm<br>5 yıl içerisinde    | ≥2mm<br>5 yıl içerisinde   |
|                            | İndirekt ilerleme kanıtı | % Kemik kaybı/yaş                 | < 0.25  | 0.25-1                      | > 1  |
|                            |                          | Fenotip                           | Düşük düzeyde yıkım, fazla biyofilm birikintileri | Biyofilme uyumlu yıkım      | Mevcut biyofilme göre daha fazla yıkım<br>Molar-keser paterni<br>Standart tedaviye beklenen yanıtın olmaması |
| Dereceyi modifiye ediciler | Risk faktörleri          | Sigara                            | -   | <10 sigara/gün              | ≥10 sigara/gün   |
|                            |                          | Diyabet                           | -   | HbA1c<7                     | HbA1c≥7  |

Sigara kullanımı veya diyabetin metabolik kontrolü gibi bilinen risk faktörleri, periodontitisin ilerleme oranını etkilemektedir. Bu nedenle derece, ataçman kaybı veya fenotip gibi birincil kriterler baz alınarak belirlense dahi mevcut olan risk faktörü vakayı bir üst dereceye taşımaktadır. Örneğin ataçman kaybına göre “Derece B” olarak belirlenmiş bir hastada kötü kontrollü Tip II diyabet olması sonucunda tanı “Derece C” olarak değiştirilmelidir.

## 1.2 Periodontal Hastalığın Patogenezi

Gingivitis ve periodontitisin gelişimi histopatolojik özelliklerine göre genel hatlarıyla başlangıç, erken, yerleşmiş ve ilerlemiş lezyonlar olarak 4 safhada tanımlanmıştır (Page ve Schroeder 1976).

Başlangıç lezyonu, gingival dokuların plak akümülyasyonuna 2 ila 4 gün içerisinde, klasik bir akut eksüdatif vaskülit ile; yerleşik olarak bulunan lökosit ve endotel hücreleri vasıtasıyla yanıt vermesidir (Page ve Schroeder 1976). Lezyon dişeti sulkusu bölgesinde lokalizedir ve etkilenen dokular birleşim epitelinin bir kısmı ve bağ dokusunun en koronal kısmını içermektedir. Bu aşamada lezyon enflamasyon belirtilerinin olmadığı subklinik bir seyir göstermekte, dokudaki değişiklikler ancak histolojik olarak saptanabilmektedir.

Erken lezyon, plak akümülyasyonunun başlamasından yaklaşık 4 - 7 gün sonra başlangıç lezyonunun ilerlemesi sonucu oluşmaktadır. Bu aşamada hemoraji gibi enflamasyonun klinik belirtileri ortaya çıkar. Bağ dokusunda artan sayıda nötrofil ve makrofajlar, lenfositler, plazma hücreleri ve mast hücreleri mevcuttur fakat toplam enflamatuvar hücre popülyasyonunun yaklaşık %75'ini lenfositler oluşturmaktadır (Page 1986). DOS akışı ve göç eden lökositlerin sayısının klinik enflamasyonun görülmeye başlamasından sonraki 6 ila 12 gün arasında maksimuma ulaştığı gösterilmiştir (Lindhe ve ark 1973).

Yerleşmiş lezyon 2 ila 3 hafta plak birikiminden sonra görülmektedir. Doğal immun yanıtından kazanılmış immun yanıtı geçiş dönemi olarak düşünülmektedir. Plazma hücreleri, T ve B lenfositleri baskındır (Mackler ve ark 1977). Klinik olarak dişetinde hemoraji, renk ve kontur değişikliklerinin izlenebildiği orta ila şiddetli olarak görülebilen bir dişeti enflamasyonudur. Bu evrede kollajenolitik aktivitenin artmasına karşılık fibroblastlar ile kollajen sentezinin de arttığı gözlemlenmektedir (Cekici ve ark 2014).

Etken ortadan kaldırıldığında homeostaza geri dönüş ile enflamasyon bu aşamada çözülmekte fakat etken uzaklaştırılmaz ise yerleşmiş lezyon, periodontitise geçişin gerçekleştiği son aşama olan ilerlemiş lezyona doğru evrilmektedir. Bu aşamada lezyon hücre karakteri olarak yerleşmiş lezyon ile aynı özelliklere sahiptir. Ek olarak ilerlemiş lezyonda bağ dokusu ataçmanının ve epitel ekinin apikale göçü ile periodontitisin bulguları olan periodontal cep formasyonu, ülserasyon ve süpürasyon, alveol kemiği ve periodontal ligamentin tahribatı ile dişte mobilite artışı ve sonunda dişin kaybına varan durumlar ile karşılaşmaktadır (Fiorellini 2006). Yerleşmiş lezyon uzun yıllar devam edebilmektedir ancak ilerlemiş lezyona doğru olan bir değişim, kronik ve başarılı bir savunma reaksiyonundan yıkıcı immünopatolojik mekanizmaya geçişi işaret etmektedir (Hasan ve Palmer 2014). Dişeti enflamasyonun şiddetlenip periodontitise doğru ilerlemesi ile T hücresi oranının azaldığı, B hücrelerinin ve plazma hücrelerinin arttığı gösterilmiş olup; bu durumun yaklaşmakta olan doku yıkımının habercisi ve kararlı yerleşik lezyonların agresif yıkıcı lezyonlara dönüşmesindeki ana olay olduğu öne sürülmüştür (Kinane 2001).

Costerton ve ark. biyofilmleri “birbirine ve / veya yüzeylere veya arayüzlere yapışan matriks kaplı bakteri popülasyonları” olarak tanımlamışlardır (Costerton ve ark 1994). Periodontal hastalık ise biyofilmin patojen özellik kazanması ile ortaya çıkan kronik enflamatuvar bir durumdur. Ağız içerisinde sistem dengedeysen sağlığın korunmasına doğrudan katkıda bulunan Gram (+) bakteri türlerinin baskın olduğu bir biyofilm mevcutken, spesifik ekolojik kaymalar ile Gram (-) anaerobik türler ortaya çıkmaktadır (Ebersole ve ark 2017). Yararlı mikroorganizmaların yerini patojen türlerin alması sonucu dengenin bozulması kavramı disbiyosiz terimi ile açıklanır. Disbiyosiz sonucu oluşan patojenik biyofilm, periodontal hastalık için primer etyolojik faktör olmasına rağmen başlı başına hastalığın oluşması için yeterli değildir. Kronik periodontal hastalığın patogenezi, disbiosisin biyolojik süreçlerini ve periodontal dokularda meydana gelen konak tepkisi düzensizliğini temsil etmektedir (Ebersole ve ark 2013, Yost ve ark 2015).

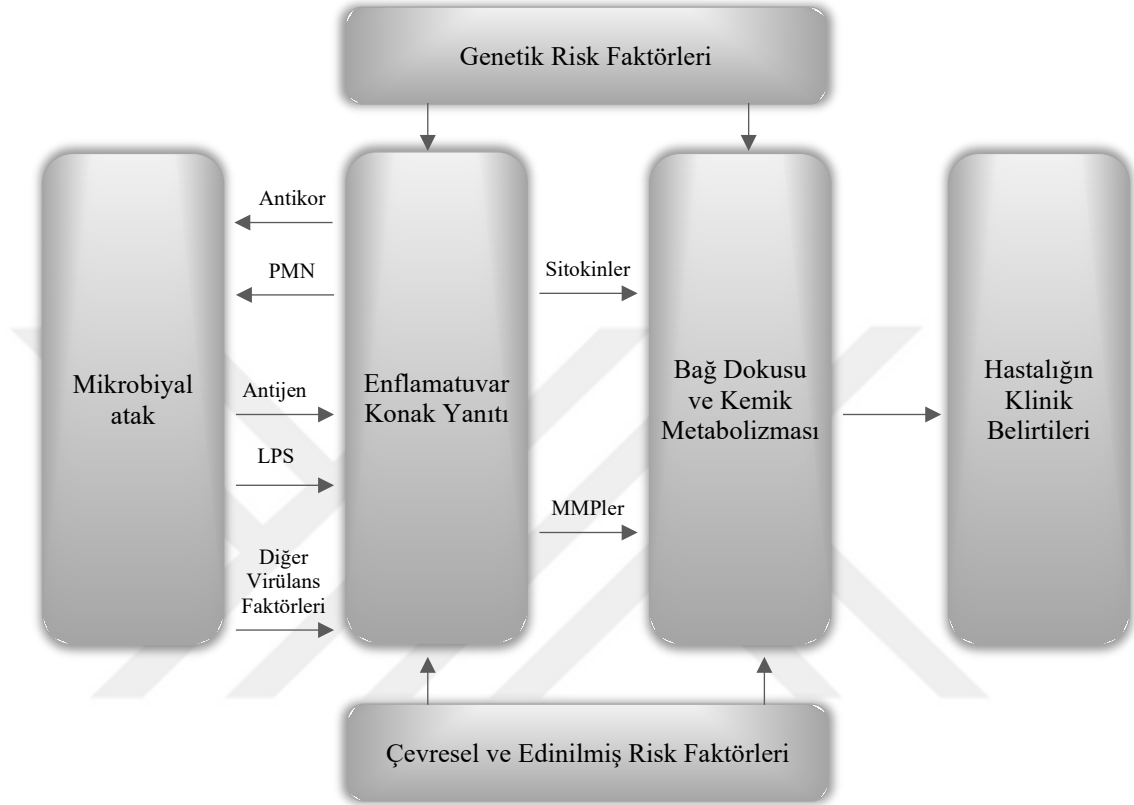
Periodontal hastalık, biyofilm ve enflamatuvar immün yanıt arasındaki karmaşık etkileşimlerden kaynaklanır. Biyofilm enfeksiyonları genellikle hem doğal hem de adaptif immün yanıtların eşzamanlı aktivasyonuna sebep olmaktadır. Çoğu zaman bu yanıt kolları biyofilm patojenlerini ortadan kaldırmada başarılı olamamakta ve sıklıkla kollateral doku hasarı ile sonuçlanmaktadır (Zelkha ve ark 2010). Bu enfeksiyonların kronik olduktan sonra yüksek bir kalıcılığa sahip olduğu çalışmalarla gösterilmiş olup bunun doğrudan antimikrobiyallere karşı fenotipik dirençleri ve koruyucu tepkilerden kaçınmak için konakçı bağışıklığını modüle etme yetenekleriyle ilgili olduğu kanıtlanmıştır (Cos ve ark 2010, Rybtke ve ark 2011). Literatür de biyofilm içindeki bakterilerin; nötrofillerin ve makrofajların fagositik aktivitelerine, biyofilm olmayan bakterilere göre daha dirençli olduğunu desteklemektedir (Jesaitis ve ark 2003, Leid ve ark 2005, Thurlow ve ark 2011, Labonte ve ark 2014).

Hastalık oluşturabilmek için patojenin taşınması gereken iki ana özellik vardır: (i) konak dokuları metabolize etme ve bu dokularda çoğalma yeteneği; (ii) hastalık oluşturabilecek gerekli sayılara ulaşmak için yeterli süre boyunca konak savunma mekanizmalarına direnç gösterme yeteneği (Ebersole ve ark 2013). Spesifik gen ürünleri olan virülans faktörler mikroorganizmalara patojenite kazandıran bu temel fonksiyonlara odaklanmaktadır (Ebersole ve ark 2017). Periodontopatojenlerin sahip olduğu virülans faktörleri arasında fimbria, spesifik proteazlar, lökotosinler ve

lipopolisakkarit (LPS) bulunmaktadır (Offenbacher 1996). Örneğin Bazı *A. actinomycetemcomitans* veya *C. rectus* suşları, nötrofilleri ve kompleman proteinlerini parçalayan lökotoxinler üretmektedir (Offenbacher 1996). Özellikle Gram (-) bakterilerin dış membranında bulunan LPS'nin hem fibroblastlar hem de epitel hücreleri ile reaksiyona girebildiği; fibroblastların bağlanmasını, göçünü ve proliferasyonunu inhibe etmenin yanı sıra epitel hücrelerini apoptoza götürdüğü gösterilmiştir (Holt ve Bramanti 1991). Ek olarak LPS, dolaşımdaki lökositlerin enflamasyonlu bölgeye diyapedezini teşvik edebilen selektinlerin endotel hücrelerinden salınımını indüklediği de çalışmalarda ortaya koyulmuştur (Darveau ve ark 1995). Diğer bir virülans faktör olan fimbriaların ise *Interleukin-1 alpha* (IL-1 $\alpha$ ), *Interleukin-1 beta* (IL-1 $\beta$ ), *Interleukin-6* (IL-6) ve *Tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ )'nın üretimini, gingival fibroblastlardan, epitelyal hücrelerden ve makrofajlar/monositlerden indükleyebildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Hedges ve ark 1992, Hamada ve ark 2002). Proteolitik enzimler olarak da adlandırılan proteazlar periodonsiyumdaki hücre dışı matris bileşenlerine doğrudan saldırabilmekte ve yapıyı bozabilmektedir. *P. gingivalis* kaynaklı proteinazların periodontal bağ dokusunun ana bileşenleri olan Tip I ve IV kollajeni ve fibronektin, laminin gibi extrasellüler matris proteinlerini yıkıma uğrattığı gösterilmiştir (Kadowaki ve ark 1994). Ancak periodontal hastalıkta bağ dokusunun tahribatında mikrobiyal proteaz yolu küçük bir rol oynamaktadır ve yıkım mikrobiyal kökenli proteolitik enzimlerden çok konak kaynaklı enzimlere daha fazla bağlıdır (Ding ve ark 1995, Tarannum ve Faizuddin 2017).

Enflamatuvar konak yanıtı, bağışıklık sisteminin zararlı uyaranları etkin bir şekilde çıkarmasını ve iyileşme sürecini başlatmasını mümkün kılan yüksek düzeyde düzenlenmiş bir biyolojik programı temsil eder. Yanıt esas olarak koruyucudur fakat belirli yolların hem hipo-duyarlılık hem de hiper-cevap verebilme özelliğinden dolayı dokulardaki yıkımın artmasına neden olabilmektedir (Preshaw ve ark 2004). Periodontal hastalıkta doku yıkımı; LPS'nin, toksinlerin veya enzimlerin periodontal dokularda polimorfonükleer lökositler (PMNL), makrofajlar, lenfositler, fibroblastlar ve osteoblastlar gibi hücrelerle etkileşime girerek matrix metalloproteinazları (MMP), interlökinler, TNF- $\alpha$  ve Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) gibi mediatörlerin serbest bırakılmaları yoluyla gerçekleşmektedir (Holt ve Bramanti 1991). LPS'nin IL-1 $\beta$ ,

TNF- $\alpha$ , IL-6, *Interferon gamma* (IFN- $\gamma$ ) ve *Interleukin-10* (IL-10)'un mast hücrelerinden de novo sentezini ve salgılanmasını indükleyebildiği böylece enflamatuvar yanıtın başlamasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Madianos ve ark 2005).



Şekil 1.2: Periodontal hastalığın patogenezi

### 1.3 Sitokinler

Periodontitis, kemik ve yumuşak doku yıkımına yol açan bakteriyel kökenli kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Preterm doğum, diabetes mellitus, koroner kalp hastalığı ve solunum yolu hastalığı dahil olmak üzere çeşitli sistemik hastalıklarla ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu ilişkilerin çoğu proenflamatuvar ve antienflamatuvar sitokinler arasındaki dengesizlik ile bağlantılıdır.

Sitokin (Cytokine) terimi, *Cyt/o* (Cell-hücre) ve *Kin/e* (hareket) den oluşmaktadır. Bu terim, çok sayıda hücre tipi aracılığıyla üretilen monokinler, glikoproteinler, lenfokinler, IFN- $\gamma$  ve interlökinler gibi çok çeşitli çözümlü bileşenleri içerir. Sitokinler, yerel haberciler gibi davranan, genellikle yüksek afiniteli yüzey reseptörlerini bağlayarak sinyallerini kısa mesafelerde ileten küçük proteinlerdir. Bir



organizmanın patojenlere ilk tepkisi, hücre tiplerinin defansif fonksiyonlarla göçü, vasküler geçirgenlikteki değişiklik ve sitokin, kemokin, interferonlar gibi çözünür araçların salgılanması ile karakterize enflamatuvar bir reaksiyondur (Trinchieri 2003).

Periodontal hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Periodontopatojen bakterilere karşı bağışıklık yanıt, T *helper* 1 (Th1) ve Th2 hücrelerinin ürettiği sitokinler arasındaki denge ile düzenlenmektedir (Gemmell ve Seymour 2004). Bağ dokusu ve kemik yıkımının önemli bir kısmı, periodontitisin bir sonucu olarak, konakçı periodontal dokulardan köken alan proenflamatuvar sitokinlere bağlıdır.

Klinik ataçman seviyesi (KAS), SCD ve SK gibi geleneksel olarak kullanılan klinik ölçümler sadece kemik ve ataçman kaybının retrospektif analizini yapabilmekte, periodontal hastalık aktivitesi hakkında gerçek zamanlı olarak tam bir bilgi sağlayamamakta ve prognoz hakkında bilgi vermemektedir. İdeal bir tanı aracı ise sadece hastalığın varlığını ve şiddetini tespit etmekle kalmaz aynı zamanda enfeksiyonun devam eden süreçte klinik seyrini de öngörür. Periodontal hastalık ilerlemesini kontrol eden ve/veya inhibe eden güçlü düzenleyici yolların ve araçların belirlenmesi, terapötik müdahalelerin gelişimi için önemlidir.

### **1.3.1 Interleukin 1 Beta (IL-1 $\beta$ )**

Enflamasyonun en erken saptanabilen endojen mediatörlerinden biri olan IL-1; geniş biyolojik fonksiyon dizisine sahip olan ve enflamasyon sırasında eksprese edilen birkaç geni doğrudan düzenleyen proenflamatuvar bir sitokindir (Atkins 1989). IL-1'in cDNA klonlaması ile tanımlanmış IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  olmak üzere iki formu bulunmaktadır (Hazuda ve ark 1988). Bu formlar, hedef hücrelerin yüzeyinde bulunan IL-1 reseptörü tip I (IL-1RI) ve IL-1 reseptörü tip II (IL-1RII) olarak adlandırılan yüksek afiniteli reseptörlere bağlanma yetenekleriyle sağlanan benzer biyolojik aktivite gösterirler (Delima ve ark 2002). Bununla birlikte sadece %26 aminoasit homolojisine sahiptirler ve gen ekspresyon düzenlemesinde ve farklı hücre tiplerinde aktivasyon ve salım mekanizmalarında farklılıklar göstermektedirler (Netea ve ark 2015). IL-1 $\alpha$  büyük ölçüde hücre ile ilişkili kalırken, IL-1 $\beta$ 'nın ise hücrelerden salındığı gösterilmiştir (Hazuda ve ark 1988).

IL-1'in PMNL ve monositlerin/makrofajların endotel hücrelere bağlanmasını arttırdığı, PGE<sub>2</sub> üretimini, lizozomal enzimlerin salınımını uyardığı ve kemik rezorpsiyonunu arttırdığı bilinmektedir (Graves ve Cochran 2003). Periodontal hastalığın patogenezinde rol oynadığının çeşitli güçlü kanıtları da mevcuttur. Primatlarda deneysel periodontitis modeli kullanan Delima, yalnızca IL-1 inhibisyonunun, hastalığın ilerlemesinde değişikliğe sebep olduğu, bağ dokusu ve alveolar kemikte enflamasyonu ve yıkımı önemli ölçüde azalttığını kanıtlamıştır (Delima ve ark 2002). Ayrıca varyasyonları periodontal hastalık oluşumu ile ilişkili olan iyi çalışılmış sitokinlerden biri IL-1 genotipidir. IL-1 kodlayan genlerdeki genetik varyasyon veya polimorfizm ile periodontal hastalık şiddeti arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (Kornman ve ark 1997). Engebretson ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, benzer periodontal hastalık şiddeti olan, ancak periodontitis ile ilişkili genotipleri taşımaları ile farklılık gösteren hastalar, dişeti oluşu sıvısında (DOS) IL-1'in ekspresyonu için karşılaştırılmış ve genotip taşıyan hastaların sıg olan ceplerde IL-1 $\beta$  seviyelerinin 3 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur (Engebretson ve ark 1999).

Enflamasyon ile ilişkili birçok hastalığın patogenezinde rol oynayan IL-1 $\beta$  periodontal dokularda immün yanıtların başlatılmasında ve düzenlenmesinde anahtar rol oynamaktadır. Periodontal enflamasyonda temel olarak makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından eksprese edilirken, gingival fibroblastlar, periodontal ligament hücreleri ve osteoblastlar da IL-1 $\beta$  salgılayabilmektedir (Liu ve ark 2010). Özellikle Gram (-) bakterilerden kaynaklanan lökotoxin ile uyarıldığında; sadece osteoklast aktivasyonu ile kemik rezorpsiyonuna neden olmakla kalmaz aynı zamanda MMP aktivasyonu, polimorfik nötrofiller, serin proteinaz, fagositik yol gibi çeşitli mekanizmalarla da bağ dokusunun tahrip olmasına neden olmaktadır. (Auerkari ve ark 2013). Yapılan bir çalışmada sağlıklı gingival dokular ile karşılaştırıldığında, periodontitisli bölgelerin gingival biyopsilerinde IL-1 $\beta$  konsantrasyonunun arttığı gösterilmiştir (Lo ve ark 1999). Ayrıca literatür de azalmış klinik enflamasyonun azalmış IL-1 $\beta$  seviyeleri ile paralel olduğunu göstermektedir (Giannopoulou ve ark 2003, Biyikoglu ve ark 2013, Sağlam ve ark 2014).

### 1.3.2 Interleukin 12 (IL-12)

*Interleukin 12* (IL-12), 35-kDa hafif zinciri (p35 veya IL-12 $\alpha$ ) ve 40-kDa ağır zinciri (p40 veya IL-12 $\beta$ ) tarafından oluşturulan heterodimer yapılıdır (Kobayashi ve ark 1989). Mikrobiyal patojenlere cevap olarak dentritik hücreler, makrofajlar ve B hücreleri tarafından üretilen proenflamatuvar bir sitokindir (Ma ve Trinchieri 2001). Enflamasyonun ilk aşamasında IL-12'nin erken ve güçlü üretimi, makrofajları aktive eder ve konağın antijen-spesifik immün tepkilerine neden olan hücre aracılı immüniteyi uyarır (Moeintaghavi ve ark 2017).

IL-12'nin çoklu biyolojik aktiviteleri mevcuttur; hem enflamatuvar hem de immünmodilatör aktiviteye sahiptir (Gemmell ve Seymour 2004). Doğal ve kazanılmış bağışıklık yanıtlarında yer alır. IL-12, uyarılmamış T-hücrelerinin Th1 hücrelerine farklılaşmasını sağlayarak kazanılmış bağışıklık sisteminin yanıtını düzenlemede önemli bir rol oynamaktadır (Kubin ve ark 1994). Ayrıca aktive T hücreleri ve *Natural killer* (NK) hücreleri tarafından IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  dahil olmak üzere diğer sitokinlerin üretimini uyarır (Trinchieri 2003).

IL-12, kemik kaybı ile birlikte enflamasyon ile indüklenen çeşitli hastalıkların kuvvetli uyarıcısı olarak ilişkilendirilmiştir ve IL-12 aracılı kemik kaybının altında yatan mekanizmanın, *Nükleer Faktör Kappa B ligandının* (RANKL) reseptör aktivatörünün yükselişiyle ilişkili olduğu bulunmuştur (Issaranggun Na Ayuthaya ve ark 2018).

Periodontal lezyonun stabil veya progresif olup olmadığını belirlemede kritik bir rol oynayan IL-12, Gram (-) bakterilerin lipopolisakkariti gibi antijenik uyarılara yanıt olarak salınmaktadır (Sanchez-Hernandez ve ark 2011). Yapılan bir çalışmada kronik periodontitisli bireylerden elde edilen dişeti oluğu sıvısında, gingivitis ve sağlıklı olan bireylerden elde edilene göre daha yüksek miktarda IL-12 bulunmuştur (Tsai ve ark 2005). Başka bir çalışmada ise periodontal hastalıklarla ilişkisi in-vivo olarak periodontitisli ve IL-12 eksikliği olan farelerde araştırılmış; IL-12 eksikliğinin alveolar kemik kaybının derecesinde önemli bir azalma meydana getirdiği gösterilmiştir (Sasaki ve ark 2008).

### 1.3.3 *Cysteine Rich Protein 61 (CCN1/CYR61)*

"*Matricellular protein*" terimi, ilk olarak 1995 yılında, matriksin yapısal bütünlüğünde minimal rol oynayan bir grup ekstrasellüler matriks proteinini tarif etmek için Bornstein tarafından tanımlanmıştır (Bornstein 1995). CCN protein ailesi; benzer moleküler yapıya sahip, kompleks ve çok fonksiyonlu altı üyesi bulunan matrisellüler protein grubudur (Muramatsu ve ark 2002). *Cysteine rich protein 61 (CCN1/CYR61)*; hücre yüzeyinde, hücre içinde ve ekstrasellüler matrikste lokalize olan ve yapısal roller yerine daha çok düzenleyici olarak görev yapan CCN protein ailesinin bir üyesidir (Yang ve ark 2018). Bu protein grubu adezyon, mitoz, kemotaksis, hücre canlılığı, farklılaşma, angiogenez, kondrogenez ve yara iyileşmesi gibi çok sayıda önemli fonksiyonel yollarda yer almaktadır (Holbourn ve ark 2008). Endotel ve epitel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri, fibroblastlar, monositler, aktive trombositler ve kardiyomiyositler dahil olmak üzere çeşitli hücre türleri, CYR61 kaynağı olarak tanımlanmıştır (Deng ve ark 2018).

Homeostatik koşullar altında düşük seviyelerde bulunan CYR61, enflamatuvar olayları düzenleyebilen proenflamatuvar bir molekül olarak kabul görmektedir (Lobel ve ark 2012). Bai ve ark tarafından yapılan bir çalışmada makrofajlarda proenflamatuvar genetik bir programı indükleyebildiği ve makrofaj fonksiyonunun yeni bir regülatörü olduğu gösterilmiş olup; TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  gibi sitokinleri ve bazı kemokinleri artırdığı ve proenflamatuvar rolüyle uyumlu olarak antienflamatuvar bir sitokin olan *Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF- $\beta$ 1)*'i ve IL-10 reseptörünü azalttığı gösterilmiştir (Bai ve ark 2010). Romatoid artrit (RA), bakteriyel ve viral enfeksiyon, diyabetik nefropati ve retinopati, birçok kanser türünde de yüksek ekspresyonu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Hughes ve ark 2007, Zhang ve ark 2009, Lau 2011). Ek olarak, sistemik lupus eritematozus (SLE) dahil olmak üzere enflamatuvar koşullarda serum CYR61 düzeylerinin daha yüksek olduğu bildirilmiş ve hastalık aktivitesi ile ilişkili bulunmuştur (Lin ve ark 2015).

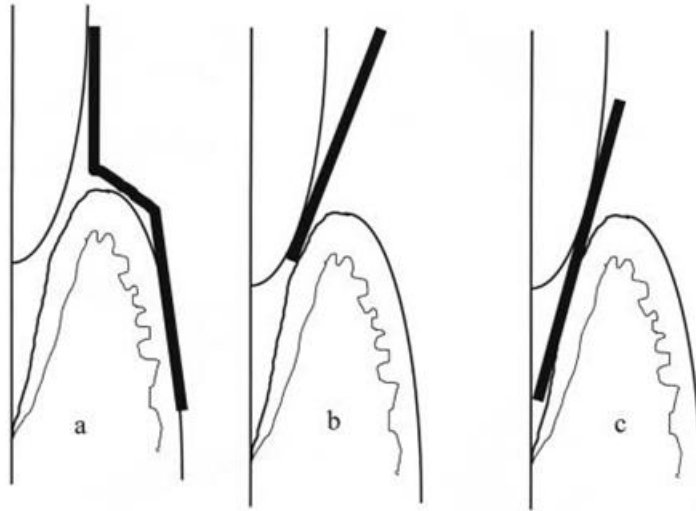
### 1.4 *Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS)*

Dişeti dokusu sürekli olarak mekanik ve bakteriyel saldırıya maruz kalmakta ve bu etkenlere karşı direnç; tükürük, DOS ve epitelyal yüzey keratinizasyonu tarafından sağlanmaktadır. Sulkus içerisinde yıkama ve izolasyon etkisi yaratarak etki

eden DOS, subgingival plak bakterileri ve ürünlerinin doku invazyonunun engellenmesini sağlamak ve konakçıdan türetilmiş bağışıklık bileşenlerinin dışarıya doğru taşınmasını sağlayan bir ortam olarak görev yapmaktadır (Goodson 2003). 1950'lerin sonunda, köpekte gingival ceplerde, subgingival mikrobiyotanın araştırılması sırasında rastlantısal olarak keşfedilen DOS, periodontal dokulardan oluşan ve gingival sulkustan toplanabilen bir serum transüdası veya enflamatuvar bir eksüda olarak tanımlanmaktadır (Brill ve Krasse 1958, Lamster 1997). Sıvı bileşeni mikrovasküler (postkapiller venül) sızıntıdan kaynaklanmaktadır. Hücresel bileşenleri arasında ise dökülmüş epitel hücreleri, bakteriler ve kan dolaşımından (özellikle nötrofiller, aynı zamanda monositler, lenfositler ve eritrositler) gelen hücreler bulunurken, moleküler elemanları arasında konakçı enzimleri, immünooglobulinler, tamamlayıcı proteinler, enflamatuvar araçlar, doku bozunma ürünleri, hücre-liziz bileşenleri ve ayrıca bakteriyel metabolik ve liziz ürünleri bulunmaktadır (Bostanci ve Belibasakis 2018). DOS hacmi, sert gıdaların çiğnenmesi ya da sert fırçalama gibi mekanik faktörlerden, sigara kullanımı, seks hormonları, sirkadyen ritim ve periodontal hastalıklardan etkilenmektedir (Khurshid ve ark 2017). Örneğin sigara kullanımının mikrosirkülasyonda bir azalmaya sebep olduğu ve DOS hacminin sigara içmeyen bireylere kıyasla daha az olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (McLaughlin ve ark 1993, Morozumi ve ark 2004). Periodontal hastalıklarda ise DOS hacminin arttığı bununla birlikte derin ceplerde sığ ceplere oranla daha yüksek seviyelerde olduğu gösterilmiştir (Goodson 2003).

Potansiyel tanı değeri deney hayvanlarında dişeti sulkusuna yerleştirilen filtre kağıdında, sistemik dolaşıma enjekte edilen bir boyanın tespit edilebildiği gösterilerek anlaşılması olan DOS, bağ dokunun durumu ve sert doku yıkımının derecesi de dahil olmak üzere periodontal doku koşulları hakkında bilgi sağlamak için kullanılan, toplanması ve analizi en travmatik olan araştırma yöntemleri arasındadır (Brill ve Krasse 1959). Doku metabolizmasında, enflamatuvar hücrelerde, iyileşmede ve bağ dokusunun yeniden oluşumunda, subklinik değişikliklerin saptanmasında kullanılabilir (Barros ve ark 2016). Periodontal hastalığın ilerlemesi sırasında DOS kompozisyonunda belirgin değişiklikler olmakta ve sitokinler, proteinler, proteinazlar, fosfatazlar ve lokal doku bozunma ürünleri gibi sayısız hücre ve enflamatuvar faktör bu biyolojik sıvı içinde yer almaktadır. Ek olarak DOS elde etme yöntemlerinin non-invaziv olması, tek hastadan birden çok örnek toplanabilmesi ve

bölgeye özgü bilgi vermesi gibi avantajlar da analizler için tercih edilebilirliğini arttırmaktadır. Dezavantajları olarak ise teknik hassasiyet gerektirmesi ve toplanabilen DOS hacminin az olması olarak sayılabilmektedir. Bir periodontitis hastasında cep içerisinden kağıt şeritler ile 30 saniye sürede ancak ortalama 0,5 µl kadar DOS toplanabilmektedir (Lamster ve ark 1989). Mikrokapiller, intrasulkuler yıkama ve kağıt şerit tekniği olmak üzere temel olarak üç yöntemle elde edilebilmektedir. Literatürde en sık kullanılan teknik, kağıt şerit yöntemidir ve intrasulkuler, ekstrasulkuler olmak üzere iki şekilde uygulanabilmektedir (Nazar Majeed ve ark 2016). Ekstrasulkuler teknikte kâğıt şerit dişin bukkal yüzeyine marjinal ve yapışık dişetin üzerine dişeti oluşunun girişine yakın şekilde konumlandırılmaktadır (Cimasoni 1983). Şeridin konumundan ve örnekleme süresinin uzun olmasından dolayı bu teknikte tükürük ve plak kontaminasyonunda artış gözlemlenmektedir. İnasulkuler yöntem ise kendi içinde ikiye ayrılmaktadır. Bunlardan biri kâğıt şeridin oluk içinde tabanda direnç hissedilene kadar ilerletildiği derin intrasulkuler yöntemdir (Brill 1962). Fakat bu tekniğin mekanik irritasyona ve sıvı hacminde artışa sebebiyet verdiği bildirildiğinden son yıllarda araştırmacılar kağıt şeritlerin sulkus içerisine yaklaşık 1 mm derinlikte konumlandırıldığı diğer bir intrasulkuler yöntem olan *orifice* yöntemini tercih etmektedirler (Loe ve Holm-Pedersen 1965). DOS örneklerinin elde edilmesinde kağıt şeritlerin sulkusta tutulma süresi hakkında literatür 30 sn ile 1 dk



Resim 1.1:(a) Ekstrasulkuler yöntem, (b) İnasulkuler orifice yöntemi, (c) Derin intrasulkuler yöntem

arasında değişmekle birlikte kan veya tükürük kontaminasyonu riskini azaltmak amacıyla 30 sn daha sık olarak tercih edilmektedir.

Bu çalışmada, periodontal sağlık, gingivitis ve periodontitis olmak üzere, farklı periodontal duruma sahip bireylerde kesitsel olarak proenflamatuvar sitokinler olan IL-1 $\beta$ , IL-12 ve CYR61'in değerlendirilmesi hedeflenmiştir. IL-1 $\beta$  ve IL-12 periodontal hastalık belirteci olarak bilinen ve üzerinde çalışılmış sitokinlerdir. Bilgimiz dahilinde, CYR61 periodontal hastalıklarda daha önce çalışılmamış ve DOS'ta değerlendirilmemiş bir mediyatördür. Periodontal hastalıkta, proenflamatuvar sitokinler olan IL-1 $\beta$  ve IL-12'nin enflamatuvar yanıtta rolleri bilinmekle birlikte, çalışmada CYR61'in biyobelirteç olabilme potansiyeli sorgulanmıştır.



## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma için Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2018/03 karar sayılı onay alındı. Çalışmaya dahil edilen bireylere araştırmanın amacı, yöntemi ve içeriği detaylı olarak anlatılarak gönüllü olarak katıldıklarına dair aydınlatılmış onam formları imzalatıldı. Çalışma Aralık 2018 - Haziran 2019 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı kliniğine periodontal tedavi gereksinimi ile başvuran bireyler ile gerçekleştirildi. Araştırmaya dahil edilen gönüllülerde ilk inceleme sırasında;

- 18 yaş ve üzeri olmasına,
- Sistemik problemi olmamasına ve düzenli herhangi bir ilaç kullanmıyor oluşuna
- Son 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmemiş olmasına ve periodontal dokuları etkileyebilecek herhangi bir antibiyotik, antienflamatuvar veya başka bir ilaç kullanmamış olmasına,
- Hamile veya emzirme döneminde olmamasına,
- Sigara içmiyor olmasına,
- Ağız içerisinde en az 20 diş bulunmasına dikkat edildi.

Alınan anamnez sonrasında bireylerin yaş ve cinsiyet bilgileri kaydedildi, bireylerde vücut ağırlığının (kg) boy uzunluğunun (m) karesine bölünmesi ile elde edilen Vücut-Kitle İndeksi (VKİ) hesaplandı.

Çizelge 2.1: Vücut kitle indeksi kategorileri (Consultation 2004)

| Vücut kitle indeksi (kg/m <sup>2</sup> ) | Kategori            |
|--|---------------------|
| <18,5                                    | Zayıf               |
| 18,5 – 24,9                              | Normal              |
| 25 – 29,9                                | Kilolu              |
| 30 – 34,9                                | Birinci derece obez |
| 35 – 39,9                                | İkinci derece obez  |
| >40                                      | Üçüncü derece obez  |

Periodontal hastalık teşhisinde '*Periodontal ve Peri-implant Hastalık ve Durumların Sınıflandırılması 2017*' kriterleri kullanıldı. Çalışmada sağlıklı, gingivitis ve periodontitis olmak üzere üç gruba yer verildi. Grupların birey sayısı dağılımı çizelge 2.2'de verilmiştir.



Çizelge 2.2: Grupların birey dağılımı

| Grup 1           | Grup 2             | Grup 3                         |                  |
|------------------|--------------------|--------------------------------|------------------|
| Sağlıklı<br>n=24 | Gingivitis<br>n=25 | Periodontitis Derece C<br>n=25 |                  |
|                  |                    | Evre II<br>n=3                 | Evre III<br>n=22 |

## 2.1 Klinik Periodontal Değerlendirme

Çalışmaya katılan bireylerden dijital panoramik radyografi ile görüntüleme yapılması sonrası ayrıntılı anamnez alındı. Daha sonra periodontal durumunu belirlemek amacıyla plak indeksi, gingival indeks, sondlama cep derinliği, sondlamada kanama indeksi ve klinik ataçman seviyesi ölçümleri yapıldı.

Gingival indeks (Gİ) ile kanama eğilimi, diş etinin rengi ve dokunun kıvamı gibi kalitatif değişimleri ve ülserasyonların varlığını ölçmek mümkündür. İndeks, dişeti sulkusunun/cebinin yumuşak doku duvarı boyunca hafifçe mekanik stimülasyon yapılarak marjinal periodontal dokuların görsel değerlendirmesi prensibine dayanmaktadır. Teknik olarak dokuyu uyarmak için sond, ortalama 45 derecelik bir açı ve yaklaşık 1 ila 2 mm derinliğinde dişeti sulkusunda gezdirilir (Trombelli ve ark 2018). En sık kullanılan indeks ise 1963 yılında Loe ve Silness tarafından geliştirilmiş olmandır. Değerlendirme şu kriterler ile yapılmaktadır:

- 0 Sağlıklı dişeti
- 1 Dişetinde hafif enflamasyon, renk değişikliği ve hafif ödem mevcuttur fakat sondlamada kanama görülmez
- 2 Dişetinde orta derecede enflamasyon, kızarıklık ve ödem vardır, sondlamada kanama mevcuttur
- 3 Dişetinde ileri derecede enflamasyon, belirgin kızarıklık ve ödem görülür, spontan kanama vardır

Plak indeksi (Pİ), dişeti enflamasyonu ile plak birikimini ilişkilendirmek amacıyla Gİ ile birlikte kullanılmak üzere, Silness ve Loe tarafından 1964 yılında geliştirilmiştir. Skorlama şu şekildedir:

- 0 Plak yok
- 1 Serbest dişeti kenarında veya dişe komşu bölgeye yapışmış film halinde plak varlığı

- 2 Dişeti cebi ve gingival marjinde ve/veya komşu diş yüzeyinde çıplak göz ile izlenebilen orta düzeyde yumuşak plak varlığı
- 3 Dişeti cebi ve/veya gingival marjin ve komşu diş yüzeyinde bol miktarda yumuşak plak varlığı

Çalışmamıza dahil edilen bireylerin tüm dişleri bukkal, lingual, mezial ve distal olmak üzere dört yüzeyde değerlendirilerek Pİ ve Gİ 0 ile 3 arasında skorlandı. Daha sonra her bir hasta için mevcut skorlar toplanıp yüzey sayısına bölünerek kişiye ait Pİ ve Gİ skorları belirlendi. Serbest dişeti kenarı ile cep tabanı arasındaki mesafe ölçülerek sondlama cep derinliği (SCD); mine sement sınırı ile cep tabanı arasındaki mesafe ölçülerek klinik ataçman seviyeleri (KAS) meziobukkal, bukkal, distobukkal, distolingual, lingual ve meziolingual olmak üzere bölgede kaydedildi. Ölçümler Williams\* periodontal sondu kullanılarak yapıldı. Ayrıca dişeti dokusunun sağlığını veya enflamasyonunu gözlemlemek için en iyi parametre olan sondlamada kanama (SK) ile diş yüzeyleri altı bölgede değerlendirildi. Dişeti cebi içinde hafifçe dolaşarak yapılan sondlama sonrası 10 saniye içinde kanama olan bölgeler pozitif (+), olmayan bölgeler ise negatif (-) olarak kaydedildi. Daha sonra kanama olan bölgelerin tüm diş yüzeylerine oranı yüzde olarak hesaplanarak SK skorları belirlendi.

## 2.2 DOS Örneklerinin Elde Edilmesi

Hastaların mevcut periodontal durumlarını etkilememek amacıyla, DOS örneklerinin alımı herhangi bir periodontal işlem yapılmadan, tüm klinik periodontal parametreler kaydedildikten 24-48 saat sonra yapıldı ve örneklerin toplanması için 09.00 - 12.00 saatleri tercih edildi. Örneklemeler tüm ağız yansıtması açısından her biri ayrı kadranda ve o kadranda en fazla SCD olan bölgeden olmak üzere toplamda 4 dişten yapıldı. Örneklemeye yapılacak dişlerin seçiminde üzerinde ve/veya komşu dişlerinde çürük, protetik veya konservatif restorasyon bulunmamasına dikkat edildi ve dişlerin mesial veya distal yüzeyleri tercih edildi. Örnekler aşağıdaki işlemler takip edilerek elde edildi:

---

\* Hu-Friedy, Chicago, Illionis, USA

- Örnekleme öncesinde bölgede bulunan supragingival plak steril küret ile uzaklaştırıldı.
- Örnek alınacak bölge steril pamuk rulo tamponlar ile tükürükten izole edildikten sonra 10 sn. boyunca mekanik travma oluşturulmadan hava spreyi ile kurutuldu.
- Standart boyutlarda hazırlanmış kağıt şeritler<sup>†</sup> sulkus içerisine 1mm yerleştirilerek (*orifice* tekniği ile) 30 sn boyunca DOS toplandı. Kan ve tükürük ile kontamine olan şeritler çalışmaya dahil edilmedi.
- Kağıt şeritteki DOS hacmi Periotron 8000<sup>‡</sup> cihazı ile ölçülerek değerler µl olarak kaydedildi.

Bir hastadan elde edilmiş olan 4 kağıt şerit 250 µl fosfat tampon (Phosphate Buffer Saline; PBS, pH = 7.4) bulunan tek *ependorf* tüpe koyularak dış ortamla temansı *Parafilm*§ sarılarak kesildi. Tüpler *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) deneyleri gerçekleşene kadar -80°C de muhafaza edildi.

### 2.3 Biyokimyasal Değerlendirme

CYR61, IL-1β ve IL-12 düzeylerinin ölçümleri, Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Merkezinde ELISA yöntemi ile *BT Lab*\*\* (IL-1β, IL-12), *YLBiont*†† (CYR61) ticari isimli kitler kullanılarak gerçekleştirildi. Deneylere başlamadan önce tüm reaktifler ve örnekler oda ısısına getirildi (18-25°C). Deneyler, protokolleri üç belirteç için de aynı olan ELISA kitler ile gerçekleştirildi. Öncelikle uygun kuyucuklara 50 µl standart ve 50 µl *Streptavidin- Horseradish Peroxidase* (HRP) eklendi. Daha sonra kuyucuklara ilk olarak 40 µl örnek solüsyonu koyularak üzerine sırasıyla 10 µl CYR61 / IL-1β / IL-12 antikoru ve 50 µl Streptavidin- HRP eklendi. Plakanın üzeri kapatılıp karıştırmak için hafifçe çalkalandı ve 37°C derecede

---

† Periopaper, Proflow, Inc., Amityville, NY

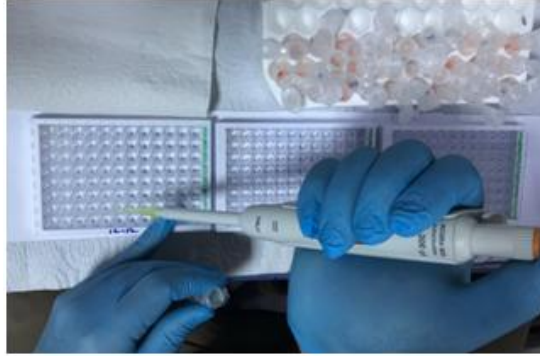
‡ Periotron 8000 Harco Electronics, Winnipeg, Canada

§ ISOLAB, Akron, Ohio, USA

\*\* Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, China

†† Shanghai YL Biotech Co., Ltd, Shanghai, China

60 dk inkübe edildi. Daha sonra sıvılar boşaltılarak her bir kuyucuk yıkama solüsyonu ile doldurulup 30 sn beklendikten sonra tekrar sıvılar boşaltıldı.



Resim 2.1: Örneklerin kuyucuklara yerleştirilmesi

Prosedür 5 kez tekrarlandıktan sonra son olarak plaka kurutuldu. Sonrasında her bir kuyucuğa önce 50µl kromojen A çözeltisi daha sonra da 50µl kromojen B çözeltisi eklendi. Tekrar karıştırmak için hafifçe çalkalandı ve renk gelişimi için karanlıkta 37 °C de 10 dk inkübe edildi. Sonrasında her bir oyuğa 50µl durdurucu solüsyon eklenerek reaksiyon durduruldu ve rengin maviden sarıya döndüğü gözlemlendi. Daha sonra plakalar ELISA optik okuyucu ile 450 nm dalga boyunda okundu.



Resim 2.2: Durdurucu solüsyonun eklenmesi



Resim 2.3: Değerlerin optik okuyucu ile okunması

## 2.4 Verilerin İstatistiksel Analizi

İstatistiksel analizler R Version 3.2.6. programı kullanılarak gerçekleştirildi. Verilere ilişkin bulgular ortalama  $\pm$  standart sapma ve sayı (%) şeklinde sunuldu. Verilerin normalliği Anderson-Darling testi ile kontrol edildi. Verilerin analizinde normal dağılıma uygunluk gösteren parametreler için Tek Yönlü Varyans analizi, normal dağılıma uygun olmayan parametreler için Kruskal Wallis testi kullanıldı. Tek yönlü varyans analizi sonucunda anlamlı farklılık belirlenen grupların ikili

karşılaştırmasında Tukey HSD, Kruskal Wallis testinden sonra ise Conover-Iman testinden yararlandı. İstatistiksel anlamlılık için  $p < 0.05$  değeri kullanıldı.



### 3. BULGULAR

#### 3.1 Demografik Bulgular

Yaş ve VKİ değerinin çalışma gruplarına göre farklılığı Tek Yönlü Varyans analizi ile test edildi. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan grupların belirlenmesinde Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Bireylerin cinsiyetleri ile çalışma grupları arasındaki ilişki Ki-Kare analizi ile test edildi.

Çizelge 3.1: Demografik Verilere İlişkin Bulgular

|                          | Sağlıklı<br>(n=24) | Gingivitis<br>(n=25) | Periodontitis<br>(n=25) | p-<br>değeri |       |
|--------------------------|--------------------|----------------------|-------------------------|--------------|-------|
| Yaş (yıl)                | 25.840 ± 5.513     | 32.480 ± 8.893       | 35.280 ± 6.804          | <0.001       |       |
| Cinsiyet*                | Erkek,<br>n (%)    | 5 (%20)              | 8 (%32)                 | 12 (%48)     | 0.109 |
|                          | Kadın,<br>n (%)    | 20 (%40)             | 17 (%34)                | 13 (%26)     |       |
| VKİ (kg/m <sup>2</sup> ) | 22.803 ±3.421      | 24.826 ± 3.994       | 27.730 ± 4.799          | <0.001       |       |

\*Ki-kare testi

p: Tek Yönlü Varyans analizi için anlamlılık değeri  
İkili karşılaştırma için Tukey HSD testi kullanıldı  
İstatistiksel anlamlılık için p< 0.05 değeri kullanıldı.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, hastaların yaşlarına göre çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (p<0.05). Çoklu karşılaştırma sonucunda, hem gingivitis (32.480 ± 8.893, p=0.004) hem de periodontitisli (35.280 ± 6.804, p<0.001) bireylerin yaşları, sağlıklı (25.840 ± 5.513) bireylerin yaşlarından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksekti. Bununla birlikte, gingivitisli ve periodontitisli hastaların yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi (p=0.359). Gruplar cinsiyetleri açısından karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (p=0.109>0.05).

Bireyler VKİ değerine göre incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü (p<0.05). Çoklu karşılaştırma sonucunda, periodontitisli hastaların VKİ değeri (27.730 ± 4.799), sağlıklı (22.803 ± 3.421, p<0.001) ve gingivitisli (24.826 ± 3.994, p=0.038) bireylerin VKİ değerinden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksekti. Bununla birlikte, gingivitisli ve sağlıklı

bireylerin VKİ değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ( $p=0.197$ ).

### 3.2 Klinik Parametrelere İlişkin Bulgular

Klinik parametrelerin çalışma gruplarına göre istatistiksel analizleri normal dağılıma uygunluk göstermeyen SCD parametresi için Kruskal Wallis testi, diğer parametreler (normallik koşulunu sağlayan) için ise Tek Yönlü Varyans analizi ile gerçekleştirildi. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan grupların belirlenmesinde Kruskal Wallis analizinden sonra Conover-Iman testi; Tek Yönlü varyans analizinden sonra ise Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Conover-Iman çoklu karşılaştırma testi için Bonferroni düzeltmesi yapılarak  $p<0.016$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 3.2.1 Tüm Ağız Klinik Parametreler

Çizelge 3.2: Klinik Parametrelere İlişkin Bulgular (Tüm Ağız)

|           | Sağlıklı<br>( $n=25$ )     | Gingivitis<br>( $n=25$ )     | Periodontitis<br>( $n=25$ ) | <i>p-değeri</i> |
|-----------|----------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------|
| SCD* (mm) | 2.053 ± 0.163 <sup>a</sup> | 2.141 ± 0.176 <sup>a</sup>   | 4.209 ± 0.713 <sup>b</sup>  | <0.001          |
| PI        | 0.446 ± 0.076 <sup>a</sup> | 1.579 ± 0.254 <sup>b</sup>   | 1.970 ± 0.110 <sup>c</sup>  | <0.001          |
| GI        | 0.467 ± 0.069 <sup>a</sup> | 1.893 ± 0.163 <sup>b</sup>   | 2.238 ± 0.083 <sup>c</sup>  | <0.001          |
| SK %      | 7.083 ± 1.325 <sup>a</sup> | 56.893 ± 12.439 <sup>b</sup> | 83.163 ± 8.746 <sup>c</sup> | <0.001          |
| KAS (mm)  | -                          | -                            | 4.397 ± 0.577               |                 |

\*Kruskal Wallis testi

p: Tek Yönlü Varyans analizi için anlamlılık değeri

İkili karşılaştırma için Tukey HSD ve Conover-Iman testi kullanıldı

İstatistiksel anlamlılık için  $p<0.05$  değeri kullanıldı.

Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Çalışma grupları arasında SCD'de istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ( $p<0.05$ ). Çoklu karşılaştırma sonucunda (Conover-Iman), periodontitisli bireylerde SCD'nin ( $4.209 ± 0.713$ ), sağlıklı ( $2.053 ± 0.163$ ,  $p<0.001$ ) ve gingivitisli ( $2.141 ± 0.176$ ,  $p<0.001$ ) bireylere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu saptandı. Bununla birlikte, gingivitisli ve sağlıklı bireylerin SCD'leri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ( $p=0.094$ ).

Gruplar Pİ'ye göre incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p<0.05$ ). Çoklu karşılaştırma sonucunda (Tukey HSD), periodontitisli bireylerin Pİ'si ( $1.970 \pm 0.110$ ) hem sağlıklı ( $0.446 \pm 0.076$ ,  $p<0.001$ ) hem de gingivitisli ( $1.579 \pm 0.254$ ,  $p<0.001$ ) bireylerden; gingivitisli bireylerde de sağlıklı bireylerden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görüldü ( $p<0.001$ ).

Tüm ağız Gİ'sine göre çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ( $p<0.05$ ). Çoklu karşılaştırma sonucunda (Tukey HSD), periodontitisli bireylerin Gİ'si ( $2.238 \pm 0.083$ ) hem sağlıklı ( $0.467 \pm 0.069$ ,  $p<0.001$ ) hem de gingivitisli ( $1.893 \pm 0.163$ ,  $p<0.001$ ) bireylerden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksekti. Bununla birlikte, gingivitisli bireylerin Gİ'si de sağlıklı bireylerden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edildi ( $p<0.001$ ).

Bireyler SK'ya göre incelendiğinde çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttu ( $p<0.05$ ). Çoklu karşılaştırma sonucunda (Tukey HSD), periodontitisli bireylerde SK ( $83.163 \pm 8.746$ ), hem sağlıklı ( $7.083 \pm 1.325$ ,  $p<0.001$ ) hem de gingivitisli ( $56.893 \pm 12.439$ ,  $p<0.001$ ) bireylerden; gingivitisli bireylerde de sağlıklı bireylerden istatistiksel olarak anlamlı derece yüksek olduğu saptandı ( $p<0.001$ ).

### 3.2.2 Örneklem Bölgelelerine ait Klinik Parametreler

Çizelge 3.3: Klinik Parametrelere İlişkin Bulgular (Örneklem Bölgeleleri)

|          | Sağlıklı<br>(n=25)  | Gingivitis<br>(n=25) | Periodontitis<br>(n=25) | p-değeri |
|----------|---------------------|----------------------|-------------------------|----------|
| SCD (mm) | $0.400 \pm 0.239^a$ | $2.550 \pm 0.306^b$  | $7.850 \pm 1.188^c$     | $<0.001$ |
| PI       | $0.400 \pm 0.239^a$ | $1.450 \pm 0.239^b$  | $2.330 \pm 0.277^c$     | $<0.001$ |
| GI       | $0 \pm 0^a$         | $1.650 \pm 0.228^b$  | $2.460 \pm 0.303^c$     | $<0.001$ |
| SK %     | $0 \pm 0^a$         | $65 \pm 22.822^b$    | $100 \pm 0^c$           | $<0.001$ |
| KAS (mm) | -                   | -                    | $5.750 \pm 0.857$       |          |

İkili karşılaştırma için Conover-Iman testi kullanıldı.  
İstatistiksel anlamlılık için  $p<0.05$  değeri kullanıldı.  
Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Örneklerin alınmış olduğu bölgeler SCD'ye göre kıyaslandığında çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ( $p<0.05$ ). Çoklu karşılaştırma sonucunda (Conover-Iman), periodontitisli bireylerde SCD'nin ( $7.850 \pm$



1.188), sağlıklı ( $0.400 \pm 0.239$ ,  $p<0.001$ ) ve gingivitisli ( $2.550 \pm 0.306$ ,  $p<0.001$ ) bireylerden; gingivitisli bireylerde de sağlıklı bireylerden anlamlı bir şekilde yüksek olduğu saptandı ( $p<0.001$ ).

Çalışma grupları arasında örnekleme bölgelerinin Pİ'si kıyaslandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Çoklu karşılaştırma sonucunda (Conover-Iman), periodontitisli bireylerde Pİ'nin ( $2.330 \pm 0.277$ ), sağlıklı ( $0.400 \pm 0.239$ ,  $p<0.001$ ) ve gingivitisli ( $1.450 \pm 0.239$ ,  $p<0.001$ ) bireylerden; gingivitisli bireylerde de sağlıklı bireylerden istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.001$ ).

Örnekleme bölgeleri Gİ'ye göre kıyaslandığında çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ( $p<0.05$ ). Çoklu karşılaştırma sonucunda (Conover-Iman), periodontitis grubunda Gİ'nin ( $2.460 \pm 0.303$ ) sağlıklı ( $0 \pm 0$ ,  $p<0.001$ ) ve gingivitis ( $1.650 \pm 0.228$ ,  $p<0.001$ ) gruplarından; gingivitis grubunda ise sağlıklı gruptan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu saptandı ( $p<0.001$ ).

Çalışma grupları SK'ya göre karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Çoklu karşılaştırma sonucunda (Conover-Iman), periodontitisli bireylerde saptanan SK'nın ( $100 \pm 0$ ) sağlıklı ( $0 \pm 0$ ,  $p<0.001$ ) ve gingivitisli ( $65 \pm 22.822$ ,  $p<0.001$ ) bireylerden; gingivitisli bireylerde ise sağlıklı bireylerden anlamlı bir şekilde yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.001$ ).

### **3.3 Biyokimyasal Parametreler**

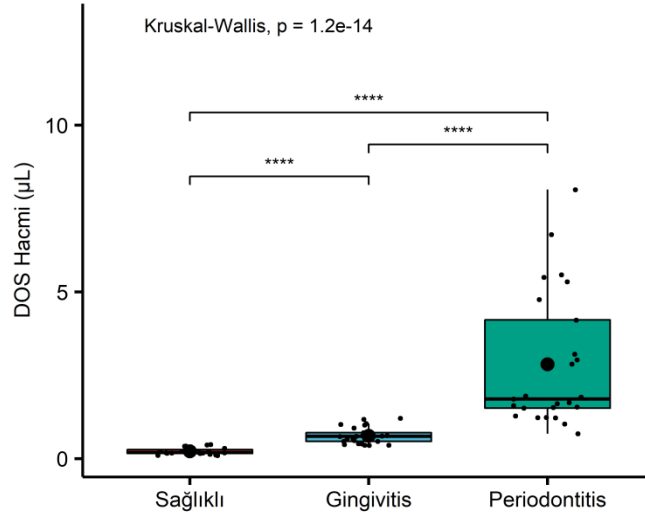
Biyokimyasal parametrelerin çalışma gruplarına göre istatistiksel analizleri, normal dağılıma uygunluk göstermeyen DOS hacmi ( $\mu\text{L}$ ) parametresi için Kruskal Wallis testi, diğer parametreler (normallik koşulunu sağlayan) için ise Tek Yönlü Varyans analizi ile gerçekleştirildi. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan grupların belirlenmesinde Kruskal Wallis analizinden sonra Conover-Iman testi; Tek Yönlü varyans analizinden sonra ise Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Conover-Iman çoklu karşılaştırma testi için Bonferroni düzeltmesi yapılarak  $p<0.016$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çalışma grupları DOS hacmine göre incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p < 0.05$ ). Çoklu karşılaştırma sonucunda (Conover-Iman), periodontitis grubunda DOS hacminin ( $2.828 \pm 2.023$ ) sağlıklı ( $0.222 \pm 0.097$ ,  $p < 0.001$ ) ve gingivitis ( $0.687 \pm 0.246$ ,  $p < 0.001$ ) gruplarından; gingivitis grubunda ise sağlıklı gruptan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu belirlendi ( $p < 0.001$ ).

Çizelge 3.4: DOS hacim değerleri

|                                      | Sağlıklı<br>(n=25)  | Gingivitis<br>(n=25) | Periodontitis<br>(n=25) | <i>p</i> -değeri |
|--------------------------------------|---------------------|----------------------|-------------------------|------------------|
| <b>DOS Hacmi (<math>\mu</math>L)</b> | $0.220 \pm 0.096^a$ | $0.687 \pm 0.246^b$  | $2.828 \pm 2.023^c$     | $< 0.001$        |

p: Tek Yönlü Varyans analizi için anlamlılık değeri  
İkili karşılaştırma için Tukey HSD ve Conover-Iman testi kullanıldı  
İstatistiksel anlamlılık için  $p < 0.05$  değeri kullanıldı.  
Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir



Şekil 3.1: Gruplar arası DOS hacimlerinin karşılaştırılması

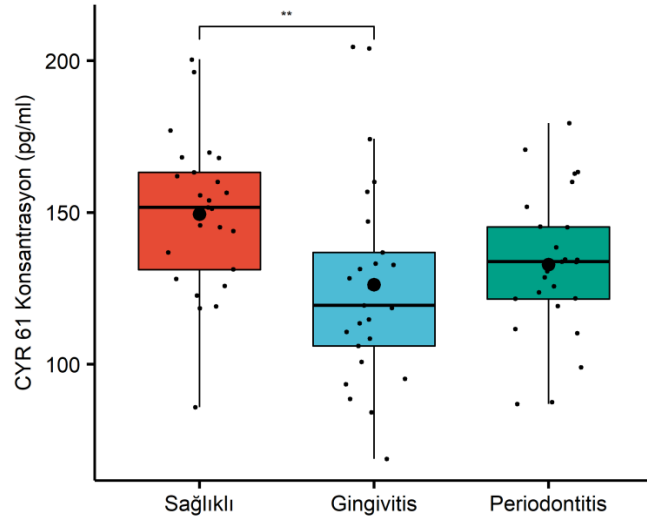
Veriler CYR61 konsantrasyon (pg/ml) ve total miktar (pg/sn) açısından kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edildi ( $p < 0.05$ ).

Çizelge 3.5: CYR61 konsantrasyon (pg/ml) ve total miktar (pg/sn) değerleri

|                      | Sağlıklı<br>(n=25)     | Gingivitis<br>(n=25)   | Periodontitis<br>(n=25) | <i>p</i> -değeri |
|----------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|------------------|
| <b>CYR61 (pg/ml)</b> | $149.461 \pm 25.376^a$ | $126.260 \pm 34.014^b$ | $132.797 \pm 23.935$    | 0.014            |
| <b>CYR61 (pg/sn)</b> | $1.247 \pm 0.212^a$    | $1.055 \pm 0.284^b$    | $1.119 \pm 0.200$       | 0.017            |

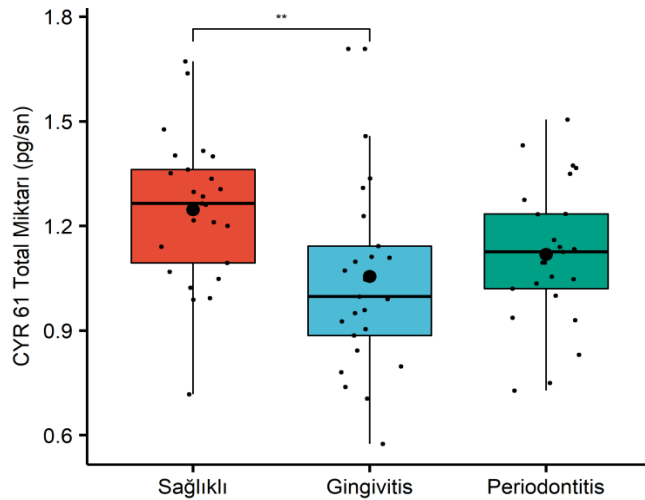
p: Tek Yönlü Varyans analizi için anlamlılık değeri  
İkili karşılaştırma için Tukey HSD ve Conover-Iman testi kullanıldı  
İstatistiksel anlamlılık için  $p < 0.05$  değeri kullanıldı.  
Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Konsantrasyon seviyelerinin çoklu karşılaştırma sonucunda, sağlıklı grupta ( $149.461 \pm 25.376$ ) gingivitis grubuna kıyasla ( $126.260 \pm 34.014$ ,  $p=0.013$ ) anlamlı şekilde yüksek olduğu belirlendi. Bununla birlikte, periodontitis grubu ( $132.797 \pm 23.935$ ) ile sağlıklı ( $p=0.098$ ) ve gingivitis ( $p=0.691$ ) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.



Şekil 3.2: Gruplar arası CYR61 konsantrasyon (pg/ml) parametresinin karşılaştırılması

Total miktar açısından CYR61 seviyeleri karşılaştırıldığında, sağlıklı grupta ( $1.247 \pm 0.212$ ) gingivitis grubuna ( $1.055 \pm 0.284$ ,  $p=0.014$ ) kıyasla anlamlı bir şekilde yüksek olduğu saptanırken; periodontitis grubu ( $1.119 \pm 0.200$ ) ile sağlıklı ( $p=0.140$ ) ve gingivitis ( $p=0.604$ ) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.



Şekil 3.3: Gruplar arası CYR61 total miktar (pg/sn) parametresinin karşılaştırılması

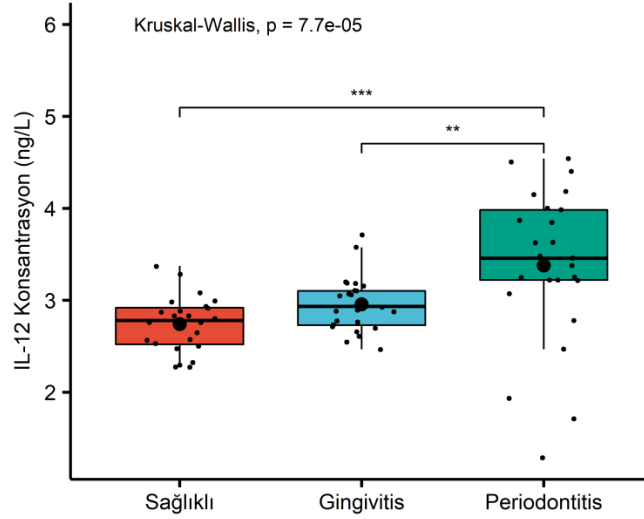
Çalışma grupları IL-12 konsantrasyon (ng/L) ve total miktar (ng/sn  $\times 10^{-5}$ ) seviyelerine göre incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu gözlemlendi ( $p < 0.001$ ).

Çizelge 3.6: IL-12 konsantrasyon (ng/L) ve total miktar (ng/sn) değerleri

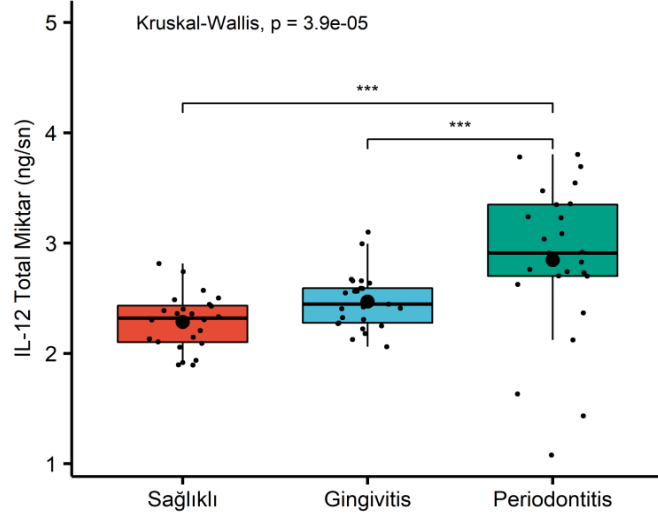
|  | Sağlıklı<br>(n=25)             | Gingivitis<br>(n=25)           | Periodontitis<br>(n=25)        | <i>p</i> -değeri |
|--|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------|
| <b>IL-12 (ng/L)</b>                              | 2.740 $\pm$ 0.303 <sup>a</sup> | 2.956 $\pm$ 0.297 <sup>a</sup> | 3.379 $\pm$ 0.839 <sup>b</sup> | <0.001           |
| <b>IL-12 (ng/sn <math>\times 10^{-5}</math>)</b> | 2.285 $\pm$ 0.253 <sup>a</sup> | 2.470 $\pm$ 0.248 <sup>a</sup> | 2.847 $\pm$ 0.700 <sup>b</sup> | <0.001           |

p: Tek Yönlü Varyans analizi için anlamlılık değeri  
İkili karşılaştırma için Tukey HSD ve Conover-Iman testi kullanıldı  
İstatistiksel anlamlılık için  $p < 0.05$  değeri kullanıldı.  
Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Çoklu karşılaştırma sonucunda (Conover-Iman) IL-12 konsantrasyon seviyelerinin periodontitis grubunda ( $3.379 \pm 0.839$ ), sağlıklı ( $2.740 \pm 0.303$ ,  $p < 0.001$ ) ve gingivitis gruplarından ( $2.956 \pm 0.297$ ,  $p = 0.002$ ) anlamlı bir şekilde yüksek olduğu saptandı. Bununla birlikte, gingivitis grubunda sağlıklı gruba göre seviyelerin yüksek olduğu saptanırken istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ( $p = 0.063$ ).



Şekil 3.4: Gruplar arası IL-12 konsantrasyon (ng/L) parametresinin karşılaştırılması



Şekil 3.5: Gruplar arası IL-12 total miktar (ng/sn) parametresinin karşılaştırılması

Veriler IL-12 total miktar seviyeleri açısından incelendiğinde, seviyelerin periodontitisli bireylerde ( $2.847 \pm 0.700$ ) sağlıklı ( $2.285 \pm 0.253$ ,  $p < 0.001$ ) ve gingivitisli ( $2.470 \pm 0.248$ ,  $p = 0.002$ ) bireylere kıyasla anlamlı şekilde yüksek olduğu izlendi. Bununla birlikte gingivitisli bireyler ile sağlıklı ( $p = 0.049$ ) bireylerin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.

Çalışma grupları IL-1 $\beta$  konsantrasyon (pg/L) ve total miktar (pg/sn  $\times 10^{-5}$ ) açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptandı ( $p < 0.05$ ).

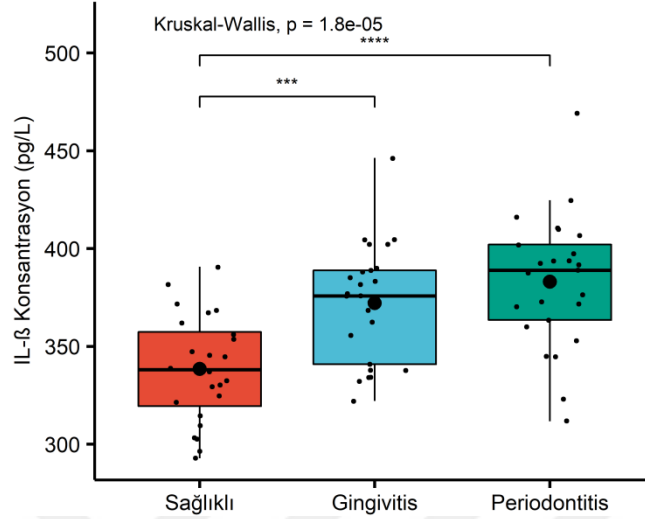
Çizelge 3.7: IL-1 $\beta$  konsantrasyon (pg/L) ve total miktar (pg/sn) değerleri

|   | Sağlıklı<br>(n=25)                | Gingivitis<br>(n=25)              | Periodontitis<br>(n=25)           | <i>p</i> -değeri |
|---|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------|
| <b>IL-1<math>\beta</math> (pg/L)</b>                              | 338.434 $\pm$ 27.275 <sup>a</sup> | 372.166 $\pm$ 29.819 <sup>b</sup> | 383.051 $\pm$ 33.641 <sup>b</sup> | <0.001           |
| <b>IL-1<math>\beta</math> (pg/sn <math>\times 10^{-5}</math>)</b> | 282.277 $\pm$ 22.730 <sup>a</sup> | 310.994 $\pm$ 24.965 <sup>b</sup> | 322.822 $\pm$ 28.476 <sup>b</sup> | <0.001           |

p: Tek Yönlü Varyans analizi için anlamlılık değeri  
İkili karşılaştırma için Tukey HSD ve Conover-İman testi kullanıldı  
İstatistiksel anlamlılık için  $p < 0.05$  değeri kullanıldı.  
Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

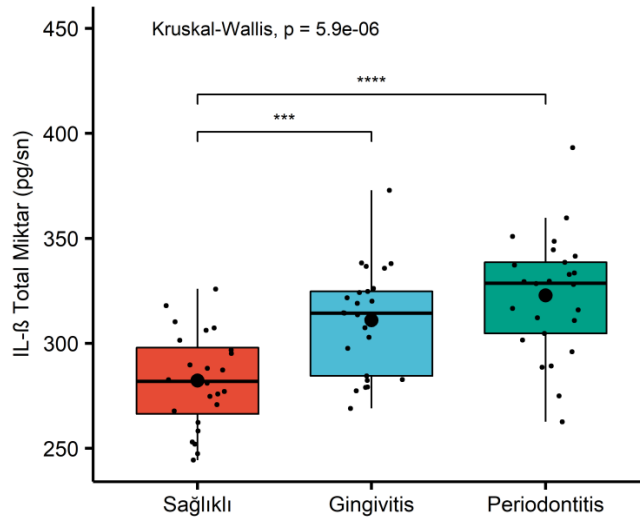
Çoklu karşılaştırma sonucunda (Conover-İman), periodontitis ( $383.051 \pm 33.641$ ,  $p < 0.001$ ) ve gingivitis ( $372.166 \pm 29.819$ ,  $p < 0.001$ ) gruplarında IL- $\beta$  konsantrasyon (pg/L) seviyelerinin sağlıklı gruptan ( $338.434 \pm 27.275$ ) istatistiksel olarak yüksek olduğu tespit edildi. Bununla birlikte, gingivitisli ve periodontitisli

bireylerin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi ( $p=0.171>0.016$ ).



Şekil 3.6: Gruplar arası IL-1 $\beta$  konsantrasyon (pg/L) parametresinin karşılaştırılması

Grupların IL-1 $\beta$  total miktar seviyeleri incelendiğinde, periodontitisli ( $322.822 \pm 28.476$ ,  $p<0.001$ ) ve gingivitisli ( $310.994 \pm 24.965$ ,  $p<0.001$ ) bireylerde sağlıklı bireylerden ( $282.277 \pm 22.730$ ) istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü. Bununla birlikte, gingivitisli ve periodontitisli bireylerin IL-1 $\beta$  seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ( $p=0.094>0.016$ ).



Şekil 3.7: Gruplar arası IL-1 $\beta$  total miktar (pg/sn) parametresinin karşılaştırılması

### 3.4 Klinik ve Biyokimyasal Parametrelerin Korelasyonu

Örnekleme bölgesi klinik parametre değerleri (SCD, PI, GI ve SK) ile biyokimyasal parametreler arasındaki ilişkiler Spearman's rho korelasyon katsayıları ( $\rho$ ) ile değerlendirildi.

Çizelge 3.8: Biyokimyasal parametrelerin örnekleme bölgeleri klinik parametreleri ile ilişkisi

|                                   | Sperman Rho Katsayısı ( $\rho$ ) | Klinik Parametreler |                  |                  |                  |
|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------|------------------|------------------|------------------|
|                                   |                                  | SCD                 | PI               | GI               | SK               |
| DOS Hacmi ( $\mu$ L)              | $\rho$                           | <b>0.894</b>        | <b>0.891</b>     | <b>0.909</b>     | <b>0.895</b>     |
|                                   | p                                | <b>&lt;0.001</b>    | <b>&lt;0.001</b> | <b>&lt;0.001</b> | <b>&lt;0.001</b> |
| CYR61 Konsantrasyon (pg/ml)       | $\rho$                           | -0.150              | -0.176           | <b>-0.239</b>    | <b>-0.238</b>    |
|                                   | p                                | 0.203               | 0.134            | <b>0.040</b>     | <b>0.041</b>     |
| CYR61 Total Miktar (pg/sn)        | $\rho$                           | -0.129              | -0.156           | -0.220           | -0.221           |
|                                   | p                                | 0.274               | 0.184            | 0.059            | 0.058            |
| IL-12 Konsantrasyon (ng/L)        | $\rho$                           | <b>0.483</b>        | <b>0.529</b>     | <b>0.458</b>     | <b>0.440</b>     |
|                                   | p                                | <b>&lt;0.001</b>    | <b>&lt;0.001</b> | <b>&lt;0.001</b> | <b>&lt;0.001</b> |
| IL-12 Total Miktar (ng/sn)        | $\rho$                           | <b>0.502</b>        | <b>0.546</b>     | <b>0.475</b>     | <b>0.458</b>     |
|                                   | p                                | <b>&lt;0.001</b>    | <b>&lt;0.001</b> | <b>&lt;0.001</b> | <b>&lt;0.001</b> |
| IL-1 $\beta$ Konsantrasyon (pg/L) | $\rho$                           | <b>0.568</b>        | <b>0.606</b>     | <b>0.656</b>     | <b>0.602</b>     |
|                                   | p                                | <b>&lt;0.001</b>    | <b>&lt;0.001</b> | <b>&lt;0.001</b> | <b>&lt;0.001</b> |
| IL-1 $\beta$ Total Miktar (pg/sn) | $\rho$                           | <b>0.599</b>        | <b>0.632</b>     | <b>0.683</b>     | <b>0.628</b>     |
|                                   | p                                | <b>&lt;0.001</b>    | <b>&lt;0.001</b> | <b>&lt;0.001</b> | <b>&lt;0.001</b> |

p: Spearman's rho korelasyon katsayısına ilişkin anlamlılık değeri  
İstatistiksel olarak anlamlı olan gruplar için p değerleri koyu renkli belirtilmiştir.

Çalışmamızda örnekleme bölgesi klinik parametreleri ile DOS hacminin ilişkisine bakıldığında tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir ilişki saptandı. Proenflamatuvar sitokinler olduğu bilinen IL-1 $\beta$  ve IL-12 için yapılan değerlendirme sonucunda, her iki parametrenin hem konsantrasyon hem de total miktar seviyelerinin tüm klinik parametreler ile istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişkili olduğu görüldü. Diğer bir parametre olan CYR61'in ise konsantrasyon değerlerinde Gİ ve SK ile istatistiksel olarak anlamlı negatif ilişki görülürken, total

miktar seviyeleri ve klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.





#### 4. TARTIŞMA

Yetişkin popülasyonun %10-15'i şiddetli periodontitisten etkilenmekte olup, şiddetli periodontitisin prevalansının yaşla birlikte giderek arttığı ve dünya çapında en yaygın altıncı durum olduğu bildirilmiştir (Kassebaum ve ark 2014). Yaşlanma, bağışıklık sisteminin hem adaptif hem de doğal yollarında değişikliklere neden olmakta ve bunun sonucu olarak bağışıklık yanıtında düzensizlikler meydana gelebilmektedir. Artan yaşla birlikte, nötrofiller ve makrofajlar gibi fagositlerde fonksiyonel bir düşüş olduğu bilinmektedir (Preshaw ve ark 2017). Literatürde *in vitro* olarak yapılan çalışmalarda, insan gingival fibroblastların yaşlanma ile LPS'ye karşı artan enflamatuvar mediyatörlerin üretimi gösterilmiş olup, enflamasyonun şiddetinin artmasına sebep olabileceği bildirilmiştir (Ogura ve ark 1996, Takiguchi ve ark 1997, Mochizuki ve ark 1999). Gingivitisle sahip olan farklı yaş gruplarının dahil edildiği başka bir çalışmada ise yaşlı bireylerde, dişeti dokularında proenflamatuvar sitokinlerin daha yüksek seviyede bulunduğu gösterilmiştir (Yakovlev ve ark 1996). Çalışmamızda gingivitis ve periodontitis gruplarının yaş ortalaması sağlıklı bireylere kıyasla istatistiksel anlamda daha yüksek olduğu bulunmuş olup, periodontitis grubunda gingivitis grubuna göre daha yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yaş arttıkça bağışıklık fonksiyonlarında meydana gelen değişikliklerin periodontitis patogenezinde etkili olduğu düşünülebilir. Gingivitis ve periodontitisli bireylerde yaş ortalamasının, sağlıklı gruba göre daha yüksek olması, yaş faktöründen kaynaklanan değişikliklerin sonuçlara yansiyabilmesi ihtimalini ortaya çıkarmakta, dolayısı ile bu çalışmadan elde edilen sonuçların yorumlanmasında limitasyon oluşturabileceği düşünülmektedir.

Obezite ve periodontitis ilişkisinin temelinde kronik enflamasyon yatmaktadır. Obez kişilerin adipoz dokularından TNF $\alpha$ , IL-1 ve leptin dahil olmak üzere proenflamatuvar mediyatörler üretilmektedir ve bu mediyatörler direkt ve/veya sistemik olarak konak immün yanıtı başlatarak periodontal dokular üzerine etki edebilmektedir (Fantuzzi 2005). Bir meta-analizde, obezite ile periodontal hastalık arasında pozitif bir ilişki olduğu ve VKİ  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> olan bireylerde daha yüksek ataçman kaybı görüldüğü bildirilmiştir (Chaffee ve Weston 2010). Kesitsel çalışmaların çoğu da meta-analizle uyumlu olarak VKİ ve periodontal hastalık arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermektedir (Dalla Vecchia ve ark 2005,

Nishida ve ark 2005, Khader ve ark 2009). Bu çalışmalar ile paralel olarak bizim çalışma sonuçlarımız da periodontitisli bireylerin VKİ'nin sağlıklı ve gingivitis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermektedir. Literatürde ilişki gösterilemeyen çalışmalar da mevcuttur. Örneğin bir çalışmada VKİ ve ataçman kaybı arasında ters bir eğilim olduğu bildirilmiştir (Kongstad ve ark 2009). Yaş ile birlikte bazal metabolizmanın yavaşlaması ve obezitenin artıyor olması (St-Onge ve Gallagher 2010), yani ilerleyen yaşın hem periodontal hastalık hem de obezite için risk indikatörü olması sebebi ile obezite ve periodontitis arasındaki ilişkinin, bu şekilde planlanmış kesitsel bir çalışmada dikkatli yorumlanmasını gerektirmektedir.

Periodontal dokuların enflamatuvar durumunun DOS hacmini ve akışını etkileyen faktörler olduğu çalışmalarla gösterilmiş olup, klinik parametreler ile uyumlu olduğu bildirilmiştir (Cimasoni 1983, Brex ve ark 1987). Suppipat ve ark tarafından dişeti enflamasyonu varlığında daha yüksek DOS akışı ve hacmi görüldüğünü, bununla birlikte enflamasyon derecesinin DOS akışı üzerinde SCD'den daha fazla etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur (Suppipat ve ark 1977). Özkavaf ve ark tarafından yapılan bir çalışmada, artan Gİ skorları ve SCD'nin DOS hacmini önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir (Özkavaf ve ark 2000). Başka bir çalışmada ise kronik peridodontitis hastalarında periodontal sağlıklı bireylere kıyasla DOS hacminin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir (Sakallioğlu ve ark 2008). Çalışmamız literatür ile uyumlu olarak DOS hacminin arttığını göstermiş olup, tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmış ve klinik parametreler ile pozitif korelasyon gözlenmiştir.

Periodontal hastalıkta, enflamatuvar cevabın düzenlenmesinde önemli bir role sahip olan IL-1 $\beta$ , çok işlevli proenflamatuvar bir sitokindir. Kemik oluşumunun inhibisyonu, prostaglandin ve tromboksan sentezinin uyarılması, kollajenaz ve proteaz üretiminin arttırılması, nötrofil degranülasyonunun ve süperoksit üretiminin güçlendirilmesi, endotelial hücre ile lökosit adezyonunun arttırılması ve fibroblast/keratinosit çoğalmasının uyarılması gibi fonksiyonları bulunmaktadır (Dinarello 1991, Stashenko ve ark 1991). Yapılan bir çalışmada benzer periodontal hastalık şiddetine sahip olan ancak periodontitis ile periodontal hastalık yatkınlık genotipini taşımaları ile farklılık gösteren hastalar IL-1'in ekspresyonu açısından karşılaştırılmış ve periodontal hastalık yatkınlık genotipi taşıyan hastalarda IL-1 $\beta$

seviyelerinin sıg ceplerde (< 4mm) 2.5 kat daha yüksek olduğu buna karşılık orta (4-6 mm) ve derin (>6 mm) ceplerde ise benzer olduğu bildirilmiştir (Engebretson ve ark 1999). Çalışmada aynı zamanda periodontal tedavinin IL-1 $\beta$  seviyelerine etkisi araştırılmış, her iki grupta da azalma görölmesine rağmen genotipi taşıyan bireylerde taşımayan bireylere kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Tedaviyi takiben DOS'ta görülen IL-1 $\beta$  kalıcılığının ise IL-1 genine ait yatkınlık genotipine sahip olmanın periodontitis için genetik risk faktörü olduğunun somut bir göstergesi olduğu açıktır.

Dokularda IL-1 $\beta$  salımı için sinyal, konakçının kendisinden ya da plak içerisinde yer alan bakterilerin LPS gibi bileşenleri veya laktik ve bütirik asit gibi fermantasyon son ürünleri ile verilmektedir (Yoshimura ve ark 1997, Kashket ve ark 1998). Zhang ve ark tarafından plak kaynaklı enflamasyonun IL-1 $\beta$  üzerine etkisinin araştırıldığı sağlıklı bireyler ile yapılan bir çalışmada, oral hijyenin 3 gün ihmal edilmesi sonucunda klinik belirtiler ortaya çıkmaksızın DOS'ta IL-1 $\beta$  konsantrasyonunda artış gözleendiği bildirilmiştir (Zhang ve ark 2002). Yapılan başka bir çalışmada ise periodontitis ve gingivitisli bireylerden elde edilen gingival dokular histolojik olarak incelenmiş ve IL-1 $\beta$ 'nın periodontal hastalığın enflamatuvar sürecinde mRNA seviyesinde eksprese edildiği ve ekspresyon seviyesinin etkilenen bölgelerde enflamatuvar hücre infiltrasyonunun yoğunluğu ile iyi korele olduğu bildirilmiştir (Tokoro ve ark 1996).

Tsai ve ark tarafından periodontitisli ve periodontal olarak sağlıklı bireyler ile yapılan bir çalışmada, DOS'ta IL-1 $\beta$  seviyeleri incelenmiş ve periodontitisli hastaların sağlıklı deneklere göre hem total miktar hem konsantrasyon değerlerinin istatistiksel olarak daha yüksek seviyelerde olduğu bildirilmiştir (Tsai ve ark 1995). Bununla birlikte periodontitisli grupta başlangıç periodontal tedavi sonrası DOS'ta total miktarın düştüğü saptanmıştır. Engebretson ve ark tarafından yapılan ve değişik derecelerde periodontal hastalığı olan bireylerde DOS'taki IL-1 $\beta$ 'nın total miktar ve konsantrasyonunun kök yüzeyi düzleştirilmesi sonrası tedaviye kısa ve uzun vadeli yanıtın değerlendirildiği bir başka çalışmada ise; başlangıçta şiddetli periodontitisli bireylerde orta şiddetli bireylere göre anlamlı şekilde yüksek IL-1 $\beta$  seviyeleri saptanmış olup, tedavi sonrası ikinci haftada şiddetli grup için orantılı olarak daha

fazla olmak üzere tüm gruplarda DOS IL-1 $\beta$  seviyelerinin düştüğü gösterilmiştir (Engebretson ve ark 2002).

Fitzsimmons ve ark, DOS'ta IL-1 $\beta$  total miktarı ile dişeti enflamasyonunu arasındaki ilişkiyi ortaya koymak adına periodontitis olan (n=511) ve olmayan (n=562) 1073 birey ile yaptıkları çalışmada, klinik indeksler ile IL-1 $\beta$  arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmiştir. Çalışmada IL-1 $\beta$  total miktarları karşılaştırılmış ve periodontitis olan bireylerde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek saptandığı bildirilmiştir. Bununla birlikte yaşlı ve genç hastalar arasında değerlendirme yapıldığında ise yaşlı bireylerde daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur (Fitzsimmons ve ark 2009).

Zhong ve ark tarafından 5809 birey ile gerçekleştirilen çalışmada DOS'ta IL-1 $\beta$  konsantrasyonu değerlendirilmiş ve cep derinliği ve sondlamada kanama ile pozitif ilişkili olduğu bildirilmiştir (Zhong ve ark 2007). Stashenko ve ark tarafından erişkin periodontitise sahip bireyler ile yapılan bir çalışmada ise başlangıçta tüm klinik parametreler kaydedilmiş ve 2 ay sonra tekrar alınan kayıtlar ile hastalık aktivitesi değerlendirilmiştir. Geçen 2 aylık dönemde 2,5 mm'den fazla ataçman kaybı görülen bölgeler aktif, başlangıçta ataçman kaybı görülen fakat 2 aylık süreçte değişim olmayan bölgeler inaktif, ataçman kaybı ve enflamasyonun gözlemlenmediği bölgeler ise sağlıklı olarak tanımlanmıştır. Denekler, cerrahi tedavi için hastalık aktivitesinin tespit edilmesinden sonraki 2 hafta içinde geri çağrılmış ve flep operasyonu sırasında aktif (n=14), inaktif (n=32) ve sağlıklı (n=4) bölgelerden alınan toplamda 50 doku örneği incelenmiş; IL-1 $\beta$  seviyesinin, son 2 ayda >2.5 mm ataçman kaybı görülen aktif bölgelerde inaktif bölgelere kıyasla yaklaşık 2.5 kat, sağlıklı alanlardan ise 4.6 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Stashenko ve ark 1991).

Çalışmamızın sonuçları IL-1 $\beta$  seviyelerinin enflamasyon ile birlikte arttığını ve klinik parametreler ile de iyi korele olduğunu göstermektedir. Gruplar karşılaştırıldığında ise sağlıklı grubun hem gingivitis hem de periodontitis grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha düşük olduğu saptanırken, periodontitis ve gingivitis grupları arasında ise fark bulunmamıştır. Literatürde değişik derecede periodontitise sahip bireylerde IL-1 $\beta$  seviyelerinde farklılık bulunmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin Toyman ve ark yaptıkları bir çalışmada klinik parametreler ile IL-

1 $\beta$ 'nin DOS seviyeleri arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmiş, agresif ve kronik periodontitis gruplarında sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel olarak IL-1 $\beta$  düzeyleri daha yüksek saptanırken; kronik ve agresif periodontitisli gruplar arasında fark saptanmamıştır (Toyman ve ark 2015). Bu çalışmada periodontitis grubuna dahil edilen bireyler, derece C ve çoğunlukla evre III periodontitisten oluşmaktaydı. Bu çalışmada farklı şiddette periodontal hastalıkların kıyaslanması bu çalışmanın amacı olmamakla birlikte, DOS IL-1 $\beta$  seviyeleri açısından, sonuçlar genel olarak literatürle uyum göstermektedir.

Hem proenflamatuvar hem de immunmodülatör aktiviteye sahip olan IL-12, dişetinde enflamasyonun başlatılmasında ve artmasında büyük bir etkiye sahiptir (Gemmell ve Seymour 2004). Literatürde periodontitis ve periapikal lezyonlar gibi enflamatuvar lezyonlarda, artmış IL-12 seviyesinin enflamasyon ve kemik yıkımının şiddeti ile ilişkili olduğu; DOS, serum ve gingival dokularda IL-12 konsantrasyonunun ve/veya mRNA ekspresyonunun periodontal dokuları etkileyebildiği gösterilmiştir (Miao ve ark 2017). Gram (-) bakterilerin LPS'si gibi antijenik uyarılara cevap olarak IL-12'nin, monosit/makrofajlar tarafından salındığı bilinmektedir (Kobayashi ve ark 2000) Yapılan çalışmalarda, periodontopatojen bakterilerin periferik kan mononükleer hücreleri tarafından IL-12 salımını indüklediği rapor edilmiş olup, bu bakterilerin IL-12'nin mRNA ekspresyonunun güçlü uyarıcıları olduğu bildirilmiştir (Kobayashi ve ark 2000, Sugano ve ark 2004).

İnsanlarda IL-12, Th1 yanıtını artırarak, doğal immün yanıttan adaptif immün yanıtı geçişi düzenlemekte, bunun yanı sıra T ve NK hücreleri tarafından IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  dahil olmak üzere diğer sitokinlerin üretimini uyarmaktadır (Trinchieri 2003). Dokuda ortaya çıkan bu proenflamatuvar sitokinler, osteoklast öncüllerinde eksprese edilen *Nuclear Factor-Kappa B*'nin reseptör aktivatörüne (RANK) bağlanan RANKL'ı üretmek üzere osteoblastik hücrelerin uyarılması ile dolaylı olarak kemik rezorpsiyonunu artırmaktadır (Taubman ve Kawai 2001). Yapılan *in vitro* bir çalışmada da IL-12'nin aracılık ettiği alveolar kemik yıkımının altında yatan mekanizmanın, insan periodontal ligament hücreleri tarafından RANKL üretimini indüklenmesi bununla birlikte Osteoprotegerin (OPG) seviyesinin etkilenmemesi sonucunda RANKL / OPG ekspresyon oranındaki değişikliğin olduğu ortaya konulmuştur (Ayuthaya ve ark 2017).

Stabil gingivitis ve progresif periodontal lezyonları olan bireylerin gingival doku biyopsilerinin incelendiği bir çalışmada gingivitis grubuna göre periodontitis grubunda IL-12'nin mRNA seviyeleri biraz daha yüksek saptanırken anlamlı bir fark bulunmamıştır (Honda ve ark 2006). Başka bir çalışmada diş eti biyopsilerinde ve serumdaki konsantrasyonları araştırılmış, agresif periodontitisli hastalarda kronik periodontitisli veya periodontal olarak sağlıklı bireylere göre daha yüksek IL-12 seviyelerinin mevcut olduğu gösterilmiştir (Sanchez-Hernandez ve ark 2011). Tsai ve ark tarafından, DOS'taki IL-12 miktarının kronik periodontitiste gingivitis ve periodontal olarak sağlıklı bireylerden anlamlı olarak daha yüksek olduğu bildirilmiş olup; sağlıklı bireylerde kronik periodontitis olan bireylere kıyasla konsantrasyon değerlerinin daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur (Tsai ve ark 2005). Yücel ve ark tarafından kronik periodontitis, gingivitis ve sağlıklı hastaların dahil edildiği çalışmada DOS IL-12 total miktarı, kronik periodontitiste sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş, bununla birlikte konsantrasyon değerlerinde gruplar arasında farklılık gösterilmemiştir (Yucel ve ark 2008). Artan enflamasyonla birlikte, DOS miktarının arttığı bilinmektedir ve IL-12 konsantrasyon seviyelerinde görülen bu farklı sonuçların sebebi olarak gösterilebilir.

Yapmış olduğumuz çalışma sonuçları; IL-12'nin proenflamatuvar rolünü destekleyici nitelikte olup gruplar arası karşılaştırmalarda hem konsantrasyon hem total miktar seviyelerinin periodontitis grubunda, sağlıklı ve gingivitis grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte gingivitis grubunda, sağlıklı gruba göre atılmış IL-12 seviyeleri saptanmış olsa da istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmemiştir.

Son yıllarda CYR61 enflamatuvar bir modülatör olarak ortaya çıkmıştır. Yapılan birçok hayvan ve insan çalışmasında, temelinde kronik enflamatuvar doku hasarının görüldüğü *Sjögren Sendromu* (SS), *Akut Koroner Sendrom* (AKS), RA ve SLE gibi hastalıklar ile ilişkisi ortaya konulmaya çalışılmıştır. Örneğin CYR61'in RA'da fibroblast benzeri sinoviyositler (FLS) ile IL-6 ve IL-8 üretimini teşvik ettiği ve Th17 farklılaşmasını ve nötrofil alımını gerçekleştirdiği gösterilmiş olup, enflamasyon ve doku hasarına sebep olduğu kanıtlanmıştır (Lin ve ark 2012, Zhu ve ark 2013). Başka bir çalışmada ise SLE hastalarında serum CYR61 seviyeleri incelenmiş ve sağlıklı bireylere oranla serumda seviyesinin arttığı ve bu artışın TNF-

$\alpha$ , IL-6 ve IL-17 ekspresyonu ile iyi korele olduğu gösterilmiştir (Lin ve ark 2015). Li ve ark. tarafından bir fare modelinde primer SS'de CYR61'in minör tükürük bezi dokularında yüksek oranda bulunduğu ve CYR61 ekspresyonunun bloke edilmesi halinde semptomların hafiflediği bildirilmiştir (Li ve ark 2016).

İnsanlarda, düz kas hücrelerinin aterosklerotik lezyonlarında ve iskemik kardiyomiyopati hastaların kardiyomiyositlerinde CYR61 ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiştir (Hilfiker-Kleiner ve ark 2004). Yapılan *in vitro* çalışmalarda, CYR61'in proenflamatuvar profili ile uyumlu olarak AKS'nin erken fazında yer alan M1 tipi makrofajlarla monosit adezyonu ve aktivasyonuna aracılık ettiği bildirilmiştir (Schober ve ark 2002, Bai ve ark 2010). Başka bir çalışmada da periferik kandaki CYR61 seviyelerinin AKS'de stabil koroner arter hastalıkları olan bireylere kıyasla belirgin şekilde arttığı gösterilmiş olup, akut miyokard hasarında belirteç olarak kullanılabilir bir mediyatör olduğu bildirilmiştir (Klingenberg ve ark 2017).

Ekstrasellüler matriks proteini olan CYR61, hücre proliferasyonu, adezyon, migrasyon, anjiyogenez ve yara iyileşmesi dahil olmak üzere birçok biyolojik fonksiyonda yer almaktadır. Lökositlerin göçü, enflamasyonun işareti olarak görülen çok aşamalı bir olaydır ve bu süreç boyunca, enflamatuvar uyarıcılar, lökositleri tutan yapışma moleküllerini ve kemokinleri eksprese etmek için endotel hücrelerini aktive etmektedir. *In vitro* çalışmalar, CYR61'in esas olarak integrin bağımlı bir şekilde periferik kanla aktive olan monositlerin ve makrofajların yapışmasını indüklediğini göstermektedir (Schober ve ark 2002).

Yara iyileşmesi birbirini takip eden üç fazdan oluşmaktadır; (i) nötrofillerin ve makrofajların infiltrasyonunun görüldüğü enflamatuvar faz, (ii) granülasyon dokusunun olduğu proliferatif faz ve (iii) maturasyon fazı. Yara iyileşmesinde CYR61'in çeşitli ve kritik fonksiyonları koordine ettiği ve enflamatuvar ve maturasyon fazında arttığı bildirilmiştir (Kim ve ark 2018).

Nötrofil infiltrasyonu, yara iyileşmesinin ilk adımını oluşturmakla birlikte, apoptotik hücrelerin efferositozis adı verilen fagositoz yoluyla uzaklaştırılmaları doku onarımı için kritiktir. Apoptotik nötrofiller iyileşmenin devam etmesi için uzaklaştırılmalıdır, çünkü bu hücreler dokuda sekonder nekroz yapabilmekte ve daha fazla doku hasarına neden olan proteazlar ve sitokinler salgılayabilmektedir (Silva

2010). Mekanik olarak CYR61, köprü görevi gören bir molekül olarak hareket ederek yara iyileşmesinin enflamatuvar fazında apoptotik nötrofillerin efferositozisini tetiklemekte ve proliferasyon fazına ilerlemeyi kolaylaştırmaktadır. Yapılan bir çalışmada CYR61 *knockout* farelerde, yara bölgelerinde apoptotik nötrofillerin uzaklaştırılmasının yetersiz olduğu, yara iyileşmesinin enflamatuvar fazda durduğu ve proliferasyon fazının bozulduğu görülmüştür (Jun ve ark 2015). Ayrıca CYR61'in yara iyileşmesindeki fazların her birini, spesifik integrin reseptörleri yoluyla gerçekleştirdiği ve ayrı hücre tipleri ile etkileşime girerek düzenlediği, epitelyal hücrelerde  $\alpha_v\beta_3$  ve  $\alpha_v\beta_5$  integrinlerini, fibroblastik hücrelerde ise  $\alpha_6\beta_1$ 'i bağladığı gösterilmiştir (Jun ve Lau 2011). Maturasyon fazında ise CYR61'in etkisi, kutanöz dokuda ve kronik karaciğer yaralanmalarında gösterilmiş olup, fibrozisi azaltma ve kısıtlama işlevini gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Kim ve ark 2013). Mukozada iyileşme mekanizmasının bozulduğu *Crohn* hastalığı ve ülseratif kolit gibi enflamatuvar bağırsak hastalıklarının da CYR61 ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Bağırsakta enflamatuvar hasar oluşturulan bir fare modelinde, CYR61 uygulanmasının mukozal iyileşmeyi büyük ölçüde hızlandırdığı bildirilmiş ve kısmen IL-6'nın indüksiyonu yoluyla, enflamatuvar hasarı takiben mukozal onarımı desteklediği gösterilmiştir (Choi ve ark 2015).

Anjiyogenez yoluyla yeni kan damarlarının oluşması; doku ve hücre gelişimi ayrıca yara iyileşmesinde önemlidir. CYR61'in yara iyileşmesinde anjiyogenik integrinler olan  $\alpha_v\beta_3$  ve  $\alpha_6\beta_1$  ile etkileşime girerek anjiyogenez yoluyla endotel hücrelerinin yapışma ve göçünü indüklediği ve doku tamirine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Leu ve ark 2002, Chintala ve ark 2015). Başka bir çalışmada ise *in vitro* ve *in vivo* olarak CYR61'in CD34<sup>+</sup> progenitör hücrelerin endotel hücrelere integrin bağımlı alımını artırdığı, böylece endotel proliferasyonu ve neovaskülarizasyonu artırdığı bildirilmiştir (Grote ve ark 2007). Fare ve koyunlarda kemik kırıklarının iyileşmesi sırasında CYR61'in yüksek oranda eksprese edildiği gösterilmiş olup iyileşme üzerine potansiyel arttırıcı etkisinin anjiyogenik aktivitesi ile bağlantılı olduğu düşünülmüştür. (Hadjiargyrou ve ark 2000, Lienau ve ark 2006). Ayrıca CYR61'in mineralize dokularda bulunduğu bildirilmiş ve *in vivo* olarak kemik gelişimi, homeostazı ve iyileşmesinde merkezi bir rol oynayan Wnt sinyal yolunun önemli bir aracısı olarak gösterilmiştir (Si ve ark 2006). Chen ve ark tarafından yapılan bir çalışmada da *Bone Morphogenetic Protein 2* (BMP-2)'ye bağlı osteoblast



farklılaşmasını artırdığı bildirilmiştir (Chen ve Du 2007). Liu ve ark tarafından CYR61 *knockout* fareler ile yapılan bir çalışmada ise trabeküler yapıda değişim, kortikal kemik kalınlığında ve kemik dayanıklılığında azalma tespit edilmiştir (Liu ve ark 2012). Bir tavşan modelinde ise CYR61 kaplanmış kollajen matriks osteotomi bölgesine uygulanmış ve defekt onarımı; kallus çapı, kemik hacmi ve burulma mukavemetinin artması ile gerçekleşmiştir (Frey ve ark 2012).

Yapmış olduğumuz çalışmada, CYR61 seviyesinin sağlıklı grupta gingivitis ve periodontitis grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiş, periodontitis grubunda ise gingivitis veya sağlıklı gruba kıyasla anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Seviyeler incelendiğinde ise periodontitise kıyasla gingivitis grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha az olduğu belirlendi. Klinik parametreler ile korelasyonuna bakıldığında ise total miktar ile ilişkili olmadığı, konsantrasyonun ise Gİ ve SK ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edildi.

Apoptotik nötrofillerin çeşitli sitokin ve proteazlar salgılayarak doku hasarına sebep olduğu bilinmektedir; CYR61 ise bu yıkım ürünlerinin uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde CYR61'in apoptotik nötrofilleri ortamdaki uzaklaştırma fonksiyonunun yüksek olmasının, son yıkım ürünlerini ortamdaki kaldırılmasını sağlayarak dokuda daha fazla yıkım olmasını engellediği ve bu nedenden dolayı periodontal sağlık grubunda daha yüksek olduğunu düşünebilir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı olmasa da seviyelerin periodontitis grubunda gingivitise göre daha yüksek olması, hastalığın ilerleyişinde bir savunma mekanizması olarak düşünülebilir. Daha önce literatürde bilginiz dahilinde DOS'ta CYR61 seviyesini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Bu da sonuçları yorumlamamızı güçleştirmektedir. Adipoz doku yoğunluğunun enflamasyon mekanizmaları üzerinde etkili olduğu bilindiğinden ve gruplar arası VKİ'de istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olması, CYR61 seviyelerindeki değişimlerin VKİ'den etkilenebileceğini de düşündürmektedir. Çalışmaya dahil edilen birey sayısının az olması da, sonuçların yorumlanmasında bir başka limitasyon olarak değerlendirilebilir.

Bu çalışma, yaptığımız taramalara göre, periodontal durum ile CYR61 ilişkisini değerlendiren ilk çalışmadır. Sonuçlar, proenflamatuvar olduğu bilinen,

CYR61 açısından beklediğimiz Őekilde sonuçlanmamıŐtır. Bu durum CYR61'in savunma mekanizmalarında rol oynayabilecek bir sitokin olduğunu dűŐündürmektedir. Periodontal hastalık seyri ve ilerleyiŐinde CYR61'in rolűnűn daha iyi anlaŐılması için, farklı Őiddette periodontitislerin de değerlendirildiği, periodontal tedavi öncesi sonrası kıyaslamaların yapıldığı, dahil edilen birey sayısının daha yűksek olduğu çalıŐmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Total miktar ve konsantrasyon düzeyleri incelendiğinde IL-1 $\beta$ 'nin sağlıklı grupta gingivitis ve periodontitis gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derece düşük olduğu görüldü.

Periodontitis grubunda gingivitis ve sağlıklı gruba kıyasla IL-12'nin total miktar ve konsantrasyon düzeylerinin istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi.

Periodontal sağlık durumunda CYR61'in hem total miktar hem konsantrasyon düzeylerinin gingivitis grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlendi.

Çalışmada IL-1 $\beta$  ve IL-12 parametrelerinin literatürle uyumlu olarak proenflamatuvar oldukları görüldü ve IL-12 açısından periodontal hastalıkta biyobelirteç olma potansiyeli doğrulandı.

CYR61'in, periodontal sağlık durumunda gingivitis grubuna göre daha yüksek olduğu bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte periodontitis grubunda yükseliyor olması savunma mekanizmalarında farklı bir yolağı etkiliyor olabileceğini düşündürmektedir. Periodontal hastalıkta ve enflamasyon yollarındaki rolünün tam olarak anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

## 6. KAYNAKLAR

- Atkins E, 1989. Fever. Historical aspects in Interleukin-1, Inflammation and Disease in Romford R, Henderson B, Eds. New York, Elsevier Science Publishers, 3.
- Auerkari E, Suhartono A, Djamal N, Verisqa F, Suryandari D, Kusdhany L, Masulili S, Talbot C, 2013. CRP and IL-1B Gene Polymorphisms and CRP in Blood in Periodontal Disease. *Open Dent J*, 7, 88-93.
- Ayuthaya BIN, Everts V, Pavasant P, 2017. Interleukin-12 Induces Receptor Activator of Nuclear Factor-Kappa B Ligand Expression by Human Periodontal Ligament Cells. *Journal of Periodontology*, 88, 7, e109-e119.
- Bai T, Chen CC, Lau LF, 2010. Matricellular protein CCN1 activates a proinflammatory genetic program in murine macrophages. *J Immunol*, 184, 6, 3223-32.
- Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T, 2016. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol 2000*, 70, 1, 53-64.
- Bhat M, 1991. Periodontal health of 14-17-year-old US schoolchildren. *J Public Health Dent*, 51, 1, 5-11.
- Biyikoglu B, Buduneli N, Aksu K, Nalbantsoy A, Lappin DF, Evrenosoglu E, Kinane DF, 2013. Periodontal therapy in chronic periodontitis lowers gingival crevicular fluid interleukin-1beta and DAS28 in rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol Int*, 33, 10, 2607-16.
- Bornstein P, 1995. Diversity of function is inherent in matricellular proteins: an appraisal of thrombospondin 1. *The Journal of cell biology*, 130, 3, 503-6.
- Bostanci N, Belibasakis GN, 2012. Porphyromonas gingivalis: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *FEMS Microbiol Lett*, 333, 1, 1-9.
- Bostanci N, Belibasakis GN, 2018. Gingival crevicular fluid and its immune mediators in the proteomic era. *Periodontol 2000*, 76, 1, 68-84.
- Bradshaw DJ, Marsh PD, Watson GK, Allison C, 1998. Role of Fusobacterium nucleatum and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration. *Infect Immun*, 66, 10, 4729-32.
- Brex M, Schlegel K, Gehr P, Lang N, 1987. Comparison between histological and clinical parameters during human experimental gingivitis. *Journal of periodontal research*, 22, 1, 50-7.
- Brill N, 1962. *The Gingival Pocket Fluid: Studies of Its Occurrence, Composition, and Effect*, Royal Dental College, Copenhagen, p.
- Brill N, Krasse B, 1958. The passage of tissue fluid into the clinically healthy gingival pocket. *Acta Odontologica Scandinavica*, 16, 3, 233-45.
- Brill N, Krasse B, 1959. Effect of mechanical stimulation on flow of tissue fluid through gingival pocket epithelium. *Acta Odontologica Scandinavica*, 17, 2, 115-30.
- Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE, 2014. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*, 64, 1, 57-80.
- Chaffee BW, Weston SJ, 2010. Association between chronic periodontal disease and obesity: a systematic review and meta-analysis. *Journal of periodontology*, 81, 12, 1708-24.
- Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, Geisinger ML, Genco RJ, Glogauer M, Goldstein M, Griffin TJ, Holmstrup P, Johnson GK, Kapila Y, Lang NP, Meyle J, Murakami S, Plemons J, Romito GA, Shapira L, Tatakis DN, Teughels W, Trombelli L, Walter C, Wimmer G, Xenoudi P, Yoshie H, 2018. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*, 89 Suppl 1, S74-S84.
- Chen Y, Du XY, 2007. Functional properties and intracellular signaling of CCN1/Cyr61. *J Cell Biochem*, 100, 6, 1337-45.

- Chintala H, Krupska I, Yan L, Lau L, Grant M, Chaqour B, 2015. The matricellular protein CCN1 controls retinal angiogenesis by targeting VEGF, Src homology 2 domain phosphatase-1 and Notch signaling. *Development*, 142, 13, 2364-74.
- Choi JS, Kim K-H, Lau LF, 2015. The matricellular protein CCN1 promotes mucosal healing in murine colitis through IL-6. *Mucosal immunology*, 8, 6, 1285.
- Cimasoni G, 1983. Crevicular fluid updated. *Monogr Oral Sci*, 12, III-VII, 1-152.
- Cimasoni G, 1983. Crevicular fluid updated, Karger, p.
- Colombo AP, Boches SK, Cotton SL, Goodson JM, Kent R, Haffajee AD, Socransky SS, Hasturk H, Van Dyke TE, Dewhirst F, Paster BJ, 2009. Comparisons of subgingival microbial profiles of refractory periodontitis, severe periodontitis, and periodontal health using the human oral microbe identification microarray. *J Periodontol*, 80, 9, 1421-32.
- Consultation WHOE, 2004. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *Lancet*, 363, 9403, 157-63.
- Cos P, Tote K, Horemans T, Maes L, 2010. Biofilms: an extra hurdle for effective antimicrobial therapy. *Curr Pharm Des*, 16, 20, 2279-95.
- Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM, 1995. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol*, 49, 711-45.
- Costerton JW, Lewandowski Z, DeBeer D, Caldwell D, Korber D, James G, 1994. Biofilms, the customized microniche. *J Bacteriol*, 176, 8, 2137-42.
- Dalla Vecchia CF, Susin C, Rösing CK, Oppermann RV, Albandar JM, 2005. Overweight and obesity as risk indicators for periodontitis in adults. *Journal of periodontology*, 76, 10, 1721-8.
- Darveau RP, Cunningham MD, Bailey T, Seachord C, Ratcliffe K, Bainbridge B, Dietsch M, Page RC, Aruffo A, 1995. Ability of bacteria associated with chronic inflammatory disease to stimulate E-selectin expression and promote neutrophil adhesion. *Infect Immun*, 63, 4, 1311-7.
- Delima AJ, Karatzas S, Amar S, Graves DT, 2002. Inflammation and tissue loss caused by periodontal pathogens is reduced by interleukin-1 antagonists. *The Journal of infectious diseases*, 186, 4, 511-6.
- Deng J, Qian X, Li J, Li Y, Li Y, Luo Y, 2018. Evaluation of serum cysteine-rich protein 61 levels in patients with coronary artery disease. *Biomark Med*.
- Dinarello CA, 1991. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood*, 77, 8, 1627-52.
- Ding Y, Uitto VJ, Firth J, Salo T, Haapasalo M, Kontinen YT, Sorsa T, 1995. Modulation of host matrix metalloproteinases by bacterial virulence factors relevant in human periodontal diseases. *Oral Dis*, 1, 4, 279-86.
- Ebersole JL, Dawson D, 3rd, Emecen-Huja P, Nagarajan R, Howard K, Grady ME, Thompson K, Peyyala R, Al-Attar A, Lethbridge K, Kirakodu S, Gonzalez OA, 2017. The periodontal war: microbes and immunity. *Periodontol 2000*, 75, 1, 52-115.
- Ebersole JL, Dawson DR, 3rd, Morford LA, Peyyala R, Miller CS, Gonzalez OA, 2013. Periodontal disease immunology: 'double indemnity' in protecting the host. *Periodontol 2000*, 62, 1, 163-202.
- Engelbreton SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB, 2002. GCF IL-1beta profiles in periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 29, 1, 48-53.
- Engelbreton SP, Lamster IB, Herrera-Abreu M, Celenti RS, Timms JM, Chaudhary AGA, di Giovine FS, Kornman KS, 1999. The Influence of Interleukin Gene Polymorphism on Expression of Interleukin-1beta and Tumor Necrosis Factor-alpha in Periodontal Tissue and Gingival Crevicular Fluid. *J Periodontol*, 70, 6, 567-73.
- Fantuzzi G, 2005. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 115, 5, 911-9; quiz 20.
- Fiorellini JI, SO.; Kim, DM, 2006. *Gingival inflammation*, Philadelphia, Elsevier Saunders, p.
- Fitzsimmons TR, Sanders AE, Slade GD, Bartold PM, 2009. Biomarkers of periodontal inflammation in the Australian adult population. *Aust Dent J*, 54, 2, 115-22.

- Frey SP, Dohrt S, Eden L, Dannigkeit S, Schuetze N, Meffert RH, Jansen H, 2012. Cysteine-rich matricellular protein improves callus regenerate in a rabbit trauma model. *Int Orthop*, 36, 11, 2387-93.
- Gemmell E, Seymour GJ, 2004. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontol 2000*, 35, 21-41.
- Giannopoulou C, Kamma JJ, Mombelli A, 2003. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol*, 30, 2, 145-53.
- Goodson JM, 2003. Gingival crevice fluid flow. *Periodontol 2000*, 31, 43-54.
- Graves DT, Cochran D, 2003. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol*, 74, 3, 391-401.
- Grote K, Salguero G, Ballmaier M, Dangers M, Drexler H, Schieffer B, 2007. The angiogenic factor CCN1 promotes adhesion and migration of circulating CD34<sup>+</sup> progenitor cells: potential role in angiogenesis and endothelial regeneration. *Blood*, 110, 3, 877-85.
- Hadjiargyrou M, Ahrens W, Rubin CT, 2000. Temporal expression of the chondrogenic and angiogenic growth factor CYR61 during fracture repair. *J Bone Miner Res*, 15, 6, 1014-23.
- Haffajee AD, Socransky SS, Smith C, Dibart S, 1991. Microbial risk indicators for periodontal attachment loss. *J Periodontal Res*, 26, 3 Pt 2, 293-6.
- Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, Hashim A, Jotwani R, Eskan MA, McIntosh ML, Alsam A, Kirkwood KL, Lambris JD, Darveau RP, Curtis MA, 2011. Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. *Cell Host Microbe*, 10, 5, 497-506.
- Hamada N, Watanabe K, Arai M, Hiramane H, Umemoto T, 2002. Cytokine production induced by a 67-kDa fimbrial protein from *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol*, 17, 3, 197-200.
- Hasan A, Palmer RM, 2014. A clinical guide to periodontology: pathology of periodontal disease. *Br Dent J*, 216, 8, 457-61.
- Hasturk H, Kantarci A, Goguet-Surmenian E, Blackwood A, Andry C, Serhan CN, Van Dyke TE, 2007. Resolvin E1 regulates inflammation at the cellular and tissue level and restores tissue homeostasis in vivo. *The Journal of Immunology*, 179, 10, 7021-9.
- Hazuda DJ, Lee JC, Young PR, 1988. The kinetics of interleukin 1 secretion from activated monocytes. Differences between interleukin 1 alpha and interleukin 1 beta. *J Biol Chem*, 263, 17, 8473-9.
- Hedges S, Svensson M, Svanborg C, 1992. Interleukin-6 response of epithelial cell lines to bacterial stimulation in vitro. *Infect Immun*, 60, 4, 1295-301.
- Herrera D, Retamal-Valdes B, Alonso B, Feres M, 2018. Acute periodontal lesions (periodontal abscesses and necrotizing periodontal diseases) and endo-periodontal lesions. *J Periodontol*, 89 Suppl 1, S85-S102.
- Hilfiker-Kleiner D, Kaminski K, Kaminska A, Fuchs M, Klein G, Podewski E, Grote K, Kiian I, Wollert KC, Hilfiker A, 2004. Regulation of proangiogenic factor CCN1 in cardiac muscle: impact of ischemia, pressure overload, and neurohumoral activation. *Circulation*, 109, 18, 2227-33.
- Holbourn KP, Acharya KR, Perbal B, 2008. The CCN family of proteins: structure-function relationships. *Trends Biochem Sci*, 33, 10, 461-73.
- Holmstrup P, Plemons J, Meyle J, 2018. Non-plaque-induced gingival diseases. *J Periodontol*, 89 Suppl 1, S28-S45.
- Holt SC, Bramanti TE, 1991. Factors in virulence expression and their role in periodontal disease pathogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2, 2, 177-281.
- Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Amanuma R, Yamazaki K, 2006. Balance of inflammatory response in stable gingivitis and progressive periodontitis lesions. *Clin Exp Immunol*, 144, 1, 35-40.

- Hughes JM, Kuiper EJ, Klaassen I, Canning P, Stitt AW, Van Bezu J, Schalkwijk CG, Van Noorden CJ, Schlingemann RO, 2007. Advanced glycation end products cause increased CCN family and extracellular matrix gene expression in the diabetic rodent retina. *Diabetologia*, 50, 5, 1089-98.
- Issaranggun Na Ayuthaya B, Everts V, Pavasant P, 2018. The immunopathogenic and immunomodulatory effects of interleukin-12 in periodontal disease. *Eur J Oral Sci*.
- Jesaitis AJ, Franklin MJ, Berglund D, Sasaki M, Lord CI, Bleazard JB, Duffy JE, Beyenal H, Lewandowski Z, 2003. Compromised host defense on *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: characterization of neutrophil and biofilm interactions. *J Immunol*, 171, 8, 4329-39.
- Jun J-I, Lau LF, 2011. Taking aim at the extracellular matrix: CCN proteins as emerging therapeutic targets. *Nature reviews Drug discovery*, 10, 12, 945.
- Jun JI, Kim KH, Lau LF, 2015. The matricellular protein CCN1 mediates neutrophil efferocytosis in cutaneous wound healing. *Nat Commun*, 6, 7386.
- Kadowaki T, Yoneda M, Okamoto K, Maeda K, Yamamoto K, 1994. Purification and characterization of a novel arginine-specific cysteine proteinase (argingipain) involved in the pathogenesis of periodontal disease from the culture supernatant of *Porphyromonas gingivalis*. *J Biol Chem*, 269, 33, 21371-8.
- Kashket S, Zhang J, Niederman R, 1998. Gingival inflammation induced by food and short-chain carboxylic acids. *J Dent Res*, 77, 2, 412-7.
- Kassebaum NJ, Bernabe E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJ, Marcenes W, 2014. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *J Dent Res*, 93, 11, 1045-53.
- Khader YS, Bawadi HA, Haroun TF, Alomari M, Tayyem RF, 2009. The association between periodontal disease and obesity among adults in Jordan. *Journal of clinical periodontology*, 36, 1, 18-24.
- Khurshid Z, Mali M, Naseem M, Najeeb S, Zafar MS, 2017. Human Gingival Crevicular Fluids (GCF) Proteomics: An Overview. *Dent J (Basel)*, 5, 1.
- Kim K-H, Chen C-C, Monzon RI, Lau LF, 2013. Matricellular protein CCN1 promotes regression of liver fibrosis through induction of cellular senescence in hepatic myofibroblasts. *Molecular and cellular biology*, 33, 10, 2078-90.
- Kim K-H, Won JH, Cheng N, Lau LF, 2018. The matricellular protein CCN1 in tissue injury repair. *Journal of cell communication and signaling*, 12, 1, 273-9.
- Kinane DF, 2001. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*, 25, 8-20.
- Klingenberg R, Aghlmandi S, Liebetrau C, Raber L, Gencer B, Nanchen D, Carballo D, Akhmedov A, Montecucco F, Zoller S, Brokopp C, Heg D, Juni P, Marti Soler H, Marques-Vidal PM, Vollenweider P, Dorr O, Rodondi N, Mach F, Windecker S, Landmesser U, von Eckardstein A, Hamm CW, Matter CM, Luscher TF, 2017. Cysteine-rich angiogenic inducer 61 (Cyr61): a novel soluble biomarker of acute myocardial injury improves risk stratification after acute coronary syndromes. *Eur Heart J*, 38, 47, 3493-502.
- Kobayashi H, Nagasawa T, Aramaki M, Mahanonda R, Ishikawa I, 2000. Individual diversities in interferon gamma production by human peripheral blood mononuclear cells stimulated with periodontopathic bacteria. *J Periodontal Res*, 35, 6, 319-28.
- Kobayashi M, Fitz L, Ryan M, Hewick RM, Clark SC, Chan S, Loudon R, Sherman F, Perussia B, Trinchieri G, 1989. Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes. *J Exp Med*, 170, 3, 827-45.
- Kongstad J, Hvidtfeldt UA, Gronbaek M, Stoltze K, Holmstrup P, 2009. The relationship between body mass index and periodontitis in the Copenhagen City Heart Study. *J Periodontol*, 80, 8, 1246-53.
- Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson TG, Jr., Higginbottom FL, Duff GW, 1997. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 24, 1, 72-7.

- Kubin M, Kamoun M, Trinchieri G, 1994. Interleukin 12 synergizes with B7/CD28 interaction in inducing efficient proliferation and cytokine production of human T cells. *J Exp Med*, 180, 1, 211-22.
- Labonte AC, Tosello-Trampont AC, Hahn YS, 2014. The role of macrophage polarization in infectious and inflammatory diseases. *Mol Cells*, 37, 4, 275-85.
- Lamster IB, 1997. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Ann Periodontol*, 2, 1, 123-37.
- Lamster IB, Harper DS, Goldstein S, Celenti RS, Oshrain RL, 1989. The effect of sequential sampling on crevicular fluid volume and enzyme activity. *J Clin Periodontol*, 16, 4, 252-8.
- Lang NP, Bartold PM, 2018. Periodontal health. *J Periodontol*, 89 Suppl 1, S9-S16.
- Lau LF, 2011. CCN1/CYR61: the very model of a modern matricellular protein. *Cell Mol Life Sci*, 68, 19, 3149-63.
- Leid JG, Willson CJ, Shirtliff ME, Hassett DJ, Parsek MR, Jeffers AK, 2005. The exopolysaccharide alginate protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria from IFN-gamma-mediated macrophage killing. *J Immunol*, 175, 11, 7512-8.
- Leu S-J, Lam SC-T, Lau LF, 2002. Pro-angiogenic activities of CYR61 (CCN1) mediated through integrins  $\alpha v \beta 3$  and  $\alpha 6 \beta 1$  in human umbilical vein endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 48, 46248-55.
- Li H, Sun X, Zhang J, Sun Y, Huo R, Li H, Zhai T, Shen B, Zhang M, Li N, 2016. Paeoniflorin ameliorates symptoms of experimental Sjogren's syndrome associated with down-regulating Cyr61 expression. *International immunopharmacology*, 30, 27-35.
- Lienau J, Schell H, Epari DR, Schutze N, Jakob F, Duda GN, Bail HJ, 2006. CYR61 (CCN1) protein expression during fracture healing in an ovine tibial model and its relation to the mechanical fixation stability. *J Orthop Res*, 24, 2, 254-62.
- Lin J, Li N, Chen H, Liu C, Yang B, Ou Q, 2015. Serum Cyr61 is associated with clinical disease activity and inflammation in patients with systemic lupus erythematosus. *Medicine (Baltimore)*, 94, 19, e834.
- Lin J, Li N, Chen H, Liu C, Yang B, Ou Q, 2015. Serum Cyr61 is associated with clinical disease activity and inflammation in patients with systemic lupus erythematosus. *Medicine*, 94, 19.
- Lin J, Zhou Z, Huo R, Xiao L, Ouyang G, Wang L, Sun Y, Shen B, Li D, Li N, 2012. Cyr61 induces IL-6 production by fibroblast-like synoviocytes promoting Th17 differentiation in rheumatoid arthritis. *J Immunol*, 188, 11, 5776-84.
- Lindhe J, Hamp SE, Loe H, 1973. Experimental periodontitis in the beagle dog. *Int Dent J*, 23, 3, 432-7.
- Liu Y, Berendsen AD, Jia S, Lotinun S, Baron R, Ferrara N, Olsen BR, 2012. Intracellular VEGF regulates the balance between osteoblast and adipocyte differentiation. *The Journal of clinical investigation*, 122, 9, 3101-13.
- Liu YC, Lerner UH, Teng YT, 2010. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000*, 52, 1, 163-206.
- Lo YJ, Liu CM, Wong MY, Hou LT, Chang WK, 1999. Interleukin 1beta-secreting cells in inflamed gingival tissue of adult periodontitis patients. *Cytokine*, 11, 8, 626-33.
- Lobel M, Bauer S, Meisel C, Eisenreich A, Kudernatsch R, Tank J, Rauch U, Kuhl U, Schultheiss HP, Volk HD, Poller W, Scheibenbogen C, 2012. CCN1: a novel inflammation-regulated biphasic immune cell migration modulator. *Cell Mol Life Sci*, 69, 18, 3101-13.
- Loe H, Holm-Pedersen P, 1965. Absence and Presence of Fluid from Normal and Inflamed Gingivae. *Periodontics*, 3, 171-7.
- Loe H, Theilade E, Jensen SB, 1965. Experimental Gingivitis in Man. *J Periodontol*, 36, 177-87.
- Loesche WJ, 1976. Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci Rev*, 9, 65-107.



- Ma X, Trinchieri G, 2001. Regulation of interleukin-12 production in antigen-presenting cells. *Adv Immunol*, 79, 55-92.
- Mackler BF, Frostad KB, Robertson PB, Levy BM, 1977. Immunoglobulin bearing lymphocytes and plasma cells in human periodontal disease. *J Periodontal Res*, 12, 1, 37-45.
- Madianos P, Bobetsis Y, Kinane D, 2005. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *Journal of Clinical Periodontology*, 32, 57-71.
- Marsh PD, 2003. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology*, 149, Pt 2, 279-94.
- Marsh PD, Moter A, Devine DA, 2011. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontol 2000*, 55, 1, 16-35.
- Mason MR, Nagaraja HN, Camerlengo T, Joshi V, Kumar PS, 2013. Deep sequencing identifies ethnicity-specific bacterial signatures in the oral microbiome. *PLoS One*, 8, 10, e77287.
- McLaughlin WS, Lovat FM, Macgregor ID, Kelly PJ, 1993. The immediate effects of smoking on gingival fluid flow. *J Clin Periodontol*, 20, 6, 448-51.
- Miao L, Zhan S, Liu J, 2017. Interleukin-12-mediated expression of matrix metalloproteinases in human periodontal ligament fibroblasts involves in NF-kappaB activation. *Biosci Rep*, 37, 6.
- Mochizuki K, Yamaguchi M, Abiko Y, 1999. Enhancement of LPS-stimulated plasminogen activator production in aged gingival fibroblasts. *J Periodontal Res*, 34, 5, 251-60.
- Moeintaghavi A, Arab HR, Rahim Rezaee SA, Naderi H, Shiezhadeh F, Sadeghi S, Anvari N, 2017. The Effects of Smoking on Expression of IL-12 and IL-1beta in Gingival Tissues of Patients with Chronic Periodontitis. *Open Dent J*, 11, 595-602.
- Morozumi T, Kubota T, Sato T, Okuda K, Yoshie H, 2004. Smoking cessation increases gingival blood flow and gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol*, 31, 4, 267-72.
- Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple ILC, 2018. Dental plaque-induced gingival conditions. *J Periodontol*, 89 Suppl 1, S17-S27.
- Muramatsu Y, Tsujie M, Kohda Y, Pham B, Perantoni AO, Zhao H, Jo SK, Yuen PS, Craig L, Hu X, Star RA, 2002. Early detection of cysteine rich protein 61 (CYR61, CCN1) in urine following renal ischemic reperfusion injury. *Kidney Int*, 62, 5, 1601-10.
- Nazar Majeed Z, Philip K, Alabsi AM, Pushparajan S, Swaminathan D, 2016. Identification of Gingival Crevicular Fluid Sampling, Analytical Methods, and Oral Biomarkers for the Diagnosis and Monitoring of Periodontal Diseases: A Systematic Review. *Dis Markers*, 2016, 1804727.
- Netea MG, van de Veerdonk FL, van der Meer JW, Dinarello CA, Joosten LA, 2015. Inflammasome-independent regulation of IL-1-family cytokines. *Annu Rev Immunol*, 33, 49-77.
- Newman MG, Socransky SS, Savitt ED, Propas DA, Crawford A, 1976. Studies of the microbiology of periodontosis. *J Periodontol*, 47, 7, 373-9.
- Nishida N, Tanaka M, Hayashi N, Nagata H, Takeshita T, Nakayama K, Morimoto K, Shizukuishi S, 2005. Determination of smoking and obesity as periodontitis risks using the classification and regression tree method. *Journal of periodontology*, 76, 6, 923-8.
- Offenbacher S, 1996. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*, 1, 1, 821-78.
- Ogura N, Matsuda U, Tanaka F, Shibata Y, Takiguchi H, Abiko Y, 1996. In vitro senescence enhances IL-6 production in human gingival fibroblasts induced by lipopolysaccharide from *Campylobacter rectus*. *Mech Ageing Dev*, 87, 1, 47-59.
- Özkavaf A, Aras H, Huri CB, Mottaghian-Dini F, Tözüm TF, Etikan I, Yamalik N, Çaglayan F, 2000. Relationship between the quantity of gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. *Journal of oral science*, 42, 4, 231-8.
- Page R, Lantz M, Darveau R, Jeffcoat M, Mancl L, Houston L, Braham P, Persson GR, 2007. Immunization of *Macaca fascicularis* against experimental periodontitis using a vaccine containing cysteine proteases purified from *Porphyromonas gingivalis*. *Oral microbiology and immunology*, 22, 3, 162-8.

- Page RC, 1986. Gingivitis. *J Clin Periodontol*, 13, 5, 345-59.
- Page RC, 1999. Milestones in periodontal research and the remaining critical issues. *J Periodontal Res*, 34, 7, 331-9.
- Page RC, Schroeder HE, 1976. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*, 34, 3, 235-49.
- Patini R, Staderini E, Lajolo C, Lopetuso L, Mohammed H, Rimondini L, Rocchetti V, Franceschi F, Cordaro M, Gallenzi P, 2018. Relationship between oral microbiota and periodontal disease: a systematic review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 22, 18, 5775-88.
- Preshaw PM, Henne K, Taylor JJ, Valentine RA, Conrads G, 2017. Age-related changes in immune function (immune senescence) in caries and periodontal diseases: a systematic review. *J Clin Periodontol*, 44 Suppl 18, S153-S77.
- Preshaw PM, Seymour RA, Heasman PA, 2004. Current concepts in periodontal pathogenesis. *Dent Update*, 31, 10, 570-2, 4-8.
- Ramberg P, Sekino S, Uzel NG, Socransky S, Lindhe J, 2003. Bacterial colonization during de novo plaque formation. *J Clin Periodontol*, 30, 11, 990-5.
- Ramseier CA, Anerud A, Dulac M, Lulic M, Cullinan MP, Seymour GJ, Faddy MJ, Burgin W, Schatzle M, Lang NP, 2017. Natural history of periodontitis: Disease progression and tooth loss over 40 years. *J Clin Periodontol*, 44, 12, 1182-91.
- Rybtke MT, Jensen PO, Hoiby N, Givskov M, Tolker-Nielsen T, Bjarnsholt T, 2011. The implication of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in infections. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 10, 2, 141-57.
- Saglam M, Kantarci A, Dundar N, Hakki SS, 2014. Clinical and biochemical effects of diode laser as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis: a randomized, controlled clinical trial. *Lasers Med Sci*, 29, 1, 37-46.
- Saito A, Inagaki S, Ishihara K, 2009. Differential ability of periodontopathic bacteria to modulate invasion of human gingival epithelial cells by *Porphyromonas gingivalis*. *Microb Pathog*, 47, 6, 329-33.
- Sakallioğlu EE, Lutfioğlu M, Sakallioğlu U, Diraman E, Keskiner I, 2008. Fluid dynamics of gingiva in diabetic and systemically healthy periodontitis patients. *Arch Oral Biol*, 53, 7, 646-51.
- Sanchez-Hernandez PE, Zamora-Perez AL, Fuentes-Lerma M, Robles-Gomez C, Mariaud-Schmidt RP, Guerrero-Velazquez C, 2011. IL-12 and IL-18 levels in serum and gingival tissue in aggressive and chronic periodontitis. *Oral Dis*, 17, 5, 522-9.
- Sasaki H, Suzuki N, Kent R, Jr., Kawashima N, Takeda J, Stashenko P, 2008. T cell response mediated by myeloid cell-derived IL-12 is responsible for *Porphyromonas gingivalis*-induced periodontitis in IL-10-deficient mice. *J Immunol*, 180, 9, 6193-8.
- Schatzle M, Loe H, Burgin W, Anerud A, Boysen H, Lang NP, 2003. Clinical course of chronic periodontitis. I. Role of gingivitis. *J Clin Periodontol*, 30, 10, 887-901.
- Schober JM, Chen N, Grzeszkiewicz TM, Jovanovic I, Emeson EE, Ugarova TP, Richard DY, Lau LF, Lam SC-T, 2002. Identification of integrin  $\alpha$ M $\beta$ 2 as an adhesion receptor on peripheral blood monocytes for Cyr61 (CCN1) and connective tissue growth factor (CCN2): immediate-early gene products expressed in atherosclerotic lesions. *Blood*, 99, 12, 4457-65.
- Schultz-Hautd S, Bruce MA, Bibby BG, 1954. Bacterial factors in nonspecific gingivitis. *J Dent Res*, 33, 4, 454-8.
- Si W, Kang Q, Luu HH, Park JK, Luo Q, Song W-X, Jiang W, Luo X, Li X, Yin H, 2006. CCN1/Cyr61 is regulated by the canonical Wnt signal and plays an important role in Wnt3A-induced osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells. *Molecular and cellular biology*, 26, 8, 2955-64.
- Silva MT, 2010. Secondary necrosis: the natural outcome of the complete apoptotic program. *FEBS Lett*, 584, 22, 4491-9.
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr., 1998. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*, 25, 2, 134-44.

- St-Onge MP, Gallagher D, 2010. Body composition changes with aging: the cause or the result of alterations in metabolic rate and macronutrient oxidation? *Nutrition*, 26, 2, 152-5.
- Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS, Prostack L, Haffajee AD, Socransky SS, 1991. Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 18, 7, 548-54.
- Stone SJ, Heasman PA, Staines KS, McCracken GI, 2015. The impact of structured plaque control for patients with gingival manifestations of oral lichen planus: a randomized controlled study. *J Clin Periodontol*, 42, 4, 356-62.
- Sugano N, Ikeda K, Oshikawa M, Idesawa M, Tanaka H, Sato S, Ito K, 2004. Relationship between *Porphyromonas gingivalis*, Epstein-Barr virus infection and reactivation in periodontitis. *Journal of oral science*, 46, 4, 203-6.
- Suppipat N, Johansen JR, Gjermo P, 1977. Influence of "time of day", pocket depth and scaling on gingival fluid flow. *J Clin Periodontol*, 4, 1, 48-55.
- Suzuki JB, 1988. Diagnosis and classification of the periodontal diseases. *Dent Clin North Am*, 32, 2, 195-216.
- Tagiguchi H, Yamaguchi M, Okamura H, Abiko Y, 1997. Contribution of IL-1 beta to the enhancement of *Campylobacter rectus* lipopolysaccharide-stimulated PGE2 production in old gingival fibroblasts in vitro. *Mech Ageing Dev*, 98, 1, 75-90.
- Tarannum F, Faizuddin M, 2017. Association between lipoxin A4 and interleukin-12 in gingival crevicular fluid: a preliminary investigation. *J Periodontal Res*, 52, 2, 210-7.
- Taubman MA, Kawai T, 2001. Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. *Crit Rev Oral Biol Med*, 12, 2, 125-35.
- Theilade E, 1986. The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 13, 10, 905-11.
- Thurlow LR, Hanke ML, Fritz T, Angle A, Aldrich A, Williams SH, Engebretsen IL, Bayles KW, Horswill AR, Kielian T, 2011. *Staphylococcus aureus* biofilms prevent macrophage phagocytosis and attenuate inflammation in vivo. *J Immunol*, 186, 11, 6585-96.
- Tokoro Y, Yamamoto T, Hara K, 1996. IL-1 $\beta$  mRNA as the predominant inflammatory cytokine transcript-correlation with inflammatory cell infiltration into human gingiva. *Journal of oral pathology & medicine*, 25, 5, 225-31.
- Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS, 2018. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*, 89 Suppl 1, S159-S72.
- Toyman U, Tuter G, Kurtis B, Kivrak E, Bozkurt S, Yucel AA, Serdar M, 2015. Evaluation of gingival crevicular fluid levels of tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor 2, matrix metalloproteinase-3 and interleukin 1-beta in patients with different periodontal diseases. *J Periodontal Res*, 50, 1, 44-51.
- Trinchieri G, 2003. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*, 3, 2, 133-46.
- Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN, 2018. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *J Periodontol*, 89 Suppl 1, S46-S73.
- Tsai CC, Ho YP, Chen CC, 1995. Levels of interleukin-1 beta and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J Periodontol*, 66, 10, 852-9.
- Tsai IS, Tsai CC, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC, 2005. Interleukin-12 and interleukin-16 in periodontal disease. *Cytokine*, 31, 1, 34-40.
- White DA, Tsakos G, Pitts NB, Fuller E, Douglas GV, Murray JJ, Steele JG, 2012. Adult Dental Health Survey 2009: common oral health conditions and their impact on the population. *Br Dent J*, 213, 11, 567-72.
- Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS, 2000. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol*, 27, 9, 648-57.

- Yakovlev E, Kalichman I, Pisanti S, Shoshan S, Barak V, 1996. Levels of cytokines and collagen type I and type III as a function of age in human gingivitis. *Journal of periodontology*, 67, 8, 788-93.
- Yang R, Chen Y, Chen D, 2018. Biological functions and role of CCN1/Cyr61 in embryogenesis and tumorigenesis in the female reproductive system (Review). *Mol Med Rep*, 17, 1, 3-10.
- Yoshimura A, Hara Y, Kaneko T, Kato I, 1997. Secretion of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-8 and IL-1ra by human polymorphonuclear leukocytes in response to lipopolysaccharides from periodontopathic bacteria. *Journal of periodontal research*, 32, 3, 279-86.
- Yost S, Duran-Pinedo AE, Teles R, Krishnan K, Frias-Lopez J, 2015. Functional signatures of oral dysbiosis during periodontitis progression revealed by microbial metatranscriptome analysis. *Genome Med*, 7, 1, 27.
- Yucel OO, Berker E, Gariboglu S, Oflu H, 2008. Interleukin-11, interleukin-1beta, interleukin-12 and the pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 35, 5, 365-70.
- Zelkha SA, Freilich RW, Amar S, 2010. Periodontal innate immune mechanisms relevant to atherosclerosis and obesity. *Periodontol 2000*, 54, 1, 207-21.
- Zhang J, Kashket S, Lingstrom P, 2002. Evidence for the early onset of gingival inflammation following short-term plaque accumulation. *J Clin Periodontol*, 29, 12, 1082-5.
- Zhang Q, Wu J, Cao Q, Xiao L, Wang L, He D, Ouyang G, Lin J, Shen B, Shi Y, Zhang Y, Li D, Li N, 2009. A critical role of Cyr61 in interleukin-17-dependent proliferation of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 60, 12, 3602-12.
- Zhong Y, Slade GD, Beck JD, Offenbacher S, 2007. Gingival crevicular fluid interleukin-1beta, prostaglandin E2 and periodontal status in a community population. *J Clin Periodontol*, 34, 4, 285-93.
- Zhu X, Xiao L, Huo R, Zhang J, Lin J, Xie J, Sun S, He Y, Sun Y, Zhou Z, 2013. Cyr61 is involved in neutrophil infiltration in joints by inducing IL-8 production by fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy*, 15, 6, R187.

## 7. EKLER



### GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME KOMİSYONU

Sayı: 03

27.03.2018

Konu: 2018/03 sayılı komisyon kararları

Sayın, Prof.Dr.Mehtikar GÜRSEL

Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'nun 03.22.2018 tarihinde yapılan 2018/03 sayılı toplantısında yürütücüsü olduğunuz **Periodontal Hastalıklarda Dişeti Oluğu Sıvısında Cysteine rich protein 61 (CYR61), Interlökin-12 (IL-12) ve Interlökin-1β (IL-1β)** " " konu başlıklı projenin, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Yönergesi İlkelerine uygun olduğundan "**kabulüne**" oybirliği ile karar verildi.

Gereğini bilgilerinize saygılarımla rica ederim.

Prof.Dr.Nimet ÜNLÜ  
Komisyon Başkanı

## EK-A: Etik kurul onayı



### GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME KOMİSYONU

|                     |                              |
|---------------------|------------------------------|
| Toplantı Sayısı : 3 | Toplantı Tarihi : 22.03.2018 |
|---------------------|------------------------------|

Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalından Prof.Dr.Mehtikar GÜRSEL aynı Anabilim dalından Dt.Meltem EYİCİ tarafından sunulan “**Periodontal Hastalıklarda Dişeti Oluşu Sırasında Cysteine rich protein 61 (CYR61), Interlökin-12 (IL-12) ve Interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )** Seviyelerinin Değerlendirilmesi” araştırma projesi 10 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Değerlendirme sonucunda, Projenin, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Yönergesi İlkelerine uygun olduğundan “ **kabulüne**” oybirliği ile karar verildi.

Prof.Dr.Nimet ÜNLÜ  
Başkan

Prof.Dr.İsa YÖNDEM  
Üye

Doç.Dr.Nevin ÇOBANOĞLU  
Üye

Prof.Dr.Doğan DOLANMAZ  
İzinli

Prof.Dr.Sema S.HAKKI  
İzinli

Prof.Dr.Duygu YINDIK  
Üye

Prof.Dr.Ender ERDOĞAN  
Üye

Prof.Dr.Hale ARMAĞANBELGE  
Üye

Doç.Dr.Ersun AŞAR  
Üye

Prof.Dr.Sibel YILDIRIM  
İzinli

Doç.Dr.Mehmet AKIN  
Üye

Doç.Dr.Hüsamettin VATANSEV  
Üye

Prof.Dr.K. Harun DOĞAN  
Üye

## 8. ÖZGEÇMİŞ

Edirne’de 1989 yılında doğdu. İlk ve orta öğretimi Tekirdağ’ın Çorlu ilçesinde gördü. Liseyi aynı şehirde bulunan Mehmet Akif Ersoy Anadolu Lisesi’nde tamamladıktan sonra 2008 yılında girdiği İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nden 2014 yılında mezun oldu. 2015 yılının eylül ayında yapılan DUS sınavı ile Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı’nda uzmanlık eğitimi görmeye hak kazandı. Halen Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı’nda uzmanlık öğrencisi olarak araştırma görevlisi unvanıyla görevine devam etmektedir.

