

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİNDE İNFLAMASYON VE DOKU HASAR
PARAMETRELERİNİN ELİSA YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖZGE İPEK

EYLÜL 2019

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİNDE İNFLAMASYON VE DOKU HASAR
PARAMETRELERİNİN ELİSA YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Özge İPEK

DANIŞMAN : Dr. Öğrt. Üyesi Volkan KARACAOĞLAN

İKİNCİ DANIŞMAN: Dr. Esra BÜBER

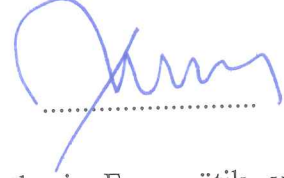
ZONGULDAK

Eylül 2019

KABUL:

Özge İPEK tarafından hazırlanan “DeneySEL Periodontitis Modelinde İnflamasyon ve Doku Hasar Parametrelerinin Elisa Yöntemiyle İncelenmesi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 30.09.2019

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Volkan KARACAOĞLAN



Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik ve Toksikoloji Bölümü

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Uğur GÜLŞEN



Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Diş hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Bölümü


Üye: Dr. Öğr. Üyesi Hasan KARAGEÇİLİ



Siirt Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Hemşirelik Bölümü

ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım. / ... 2019



Prof. Dr. Ahmet ÖZARSLAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Özge İPEK



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİNDE İNFLAMASYON VE DOKU HASAR PARAMETRELERİNİN ELİSA YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Özge İPEK

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğrt. Üyesi Volkan KARACAOĞLAN

İkinci Danışman: Dr. Esra BÜBER

Eylül 2019, 55 sayfa

Bu çalışmada deneysel periodontitis modeli oluşturulan sıçanlarda IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β , ve MMP-8 seviyelerinin kalp dokusundaki düzeylerinin periodontisli ve sağlıklı ratlardaki düzeylerinin karşılaştırılması ve periodontitise bağlı kalp rahatsızlıklarına yönelik biyomarkerların bulunması amaçlanmıştır.

Periodontitis, dişeti dokusundan kaynaklanan ve tedavi edilmediğinde daha derin dokulara inerek kemik bütünlüğünü bozan bir hastalıktır. Periodontal hastalık, sadece bulunduğu dokuda değil başta kalp olmak üzere ve diğer organlara da etki edebilmektedir. Periodontitis patolojisinde birçok faktör görev almaktadır. Hastalığın patogenezinin tam olarak anlaşılması için hastalıkla ilgili sitokinlerin araştırılması gerekmektedir.

ÖZET (devam ediyor)

Çalışmamız 20 adet Winstar ratlarkullanılarak planlandı. Ratlar hiçbir işlem uygulanmayan sağlıklı kontrol grubu (grup 1), bir haftalık dişeti inflamasyonu oluşturulmuş pre grubu (grup 2) ve iki haftalık dişeti inflamasyonu oluşturulmuş pro grubu (grup 3) olarak ayrıldı. Ratlar 90 mg/kg Ketosol ve 10 mg/kg Ksilazin uygulanarak anesteziye alındı. Deney gruplarındaki (grup 2, grup3) ratların alt birinci molar dişlerinin etrafına 3,0 ipek suture bağlanmasıyla periodontitis modeli oluşturuldu. Örnek incelemesi için ratlardan kalp dokuları alındı. Dokular tartılarak Lysis Buffer tamponu ile homojenizasyon tamponu oluşturuldu ve örnekler kullanılarak IL-1 β ,IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β ve MMP-8 düzeyleri Elisa yöntemiyle incelendi. Periodontitisli ratlarda kontrol grubuna göre tüm sitokin düzeyleri daha yüksek oranda bulundu. Bu çalışma, kardiyovasküler hastalıkların teşhisine yönelik biyomarkerların araştırılması amacıyla planlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Periodontitis, İltihap, Sitokin, Doku hasarı

Bilim Kodu: 401.01.00

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

INVESTIGATION OF INFLAMMATION AND TISSUE DAMAGE PARAMETERS IN THE EXPERIMENTAL PERIODONTITIS MODEL BY ELISA METHOD

Özge İPEK

**ZonguldakBülent Ecevit University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

Thesis Advisor: Assist. Prof. Dr. Volkan KARACAOĞLAN

Co-Advisor: Dr. Esra BÜBER

September 2019, 55 pages

In this study, the comparison of the levels of IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β and MMP-8 with the periodontal and systemic control (K) group in the experimental periodontitis model and the systemic analysis of these biomarkers. The aim of this study was to investigate the effect on heart tissue.

Periodontitis is a disease that degenerates bone integrity by going down to deeper tissues when left untreated due to gingival tissue. Periodontitis has a multifactorial origin. Periodontal disease may affect not only the tissue in which it is located, but also the heart and other organs. In order to fully understand the pathogenesis of the disease, it is necessary to search for the related diseases.

ABSTRACT (continued)

20 Wistar rats were included in the study. The rats were divided into two groups as healthy control group (group 1), one week gum inflammation pre group (group 2) and two week gum inflammation pro group (group 3). Rats were anesthetized with 90 mg / kg Ketosol and 10 mg / kg Xylazine. Periodontitis model was created by attaching 3.0 silk sutures around the lower first molar teeth of the rats in the experimental groups (group 2, group 3). Heart tissues were obtained from rats for sample analysis. Tissues were weighed and homogenization buffer was created with Lysis Buffer buffer and cytokines such as IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β and MMP-8 were examined by Elisa method. All cytokine levels were higher in periodontitis rats than in the control group. This study was planned to investigate biomarkers for the diagnosis of cardiovascular diseases.

Keywords: Periodontitis, Inflammation, Cytokine, Tissue damage

Science Code: 401.01.00

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince desteklerini ve emeklerini esirgemeyen tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Volkan KARACAOĞLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL ve Dr. Öğr. Üyesi Uğur GÜLŞEN'e ve deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına ve Dr. Esra Büber'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasının deneysel periodontitis modeli çalışmaları, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi'nde Dr. Öğr. Üyesi Uğur GÜLŞEN gözetiminde; örneklerin hazırlanması, ELISA çalışmaları ile tezin tüm yazım aşamaları Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Dr. Esra BÜBER gözetiminde; histolojik analizler Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Dilara ZEYBEK gözetiminde; anatomik analizler ise Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Hakan Hamdi ÇELİK ve Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Temel Bilimler Bölümü'nden Öğr. Gör. Dr. Mert OCAK gözetiminde yapılmıştır. Değerli hocalarıma katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman manevi desteklerini esirgemeyen canım aileme saygı ve teşekkürlerimle...

Bu çalışmanın bir kısmı, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2018- 74509460-01).



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL:.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
BÖLÜM 1 GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2 GENEL BİLGİLER	3
2.1 PERİODONTAL HASTALIK	3
2.2 PERİODONTİTİSİN NEDENLERİ.....	5
2.3 PERİODONTİTİSİN OLUŞUM MEKANİZMASI.....	5
2.4 PERİODONTİTİSİN DİĞER HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ	7
2.5 PERİODONTİTİSİN KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ.....	8
2.6 PERİODONTİTİS VE SİTOKİNLER	8
2.6.1 Tümör Nekroz Edici Faktör (TNF- α)	9
2.6.2 İnterlökin 1- β	9
2.6.3 İnterlökin-10	10
2.6.4 Transforming büyüme faktörü- β (TGF- β)	10
2.6.5 İnterlökin-6	11
2.6.6 Matrix metallioproteinase-8 (Kollajenaz Tip 2= MMP-8)	11
BÖLÜM 3 GEREÇ VE YÖNTEMLER	13
3.1 GEREÇLER.....	13

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
3.2 DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİ	15
3.3 MİKRO-BT ANALİZLERİ.....	16
3.4 HİSTOLOJİK ANALİZLER.....	17
3.5 DOKU ÖRNEKLERİNİN HOMEJENİZASYONU.....	17
3.6 TOTAL PROTEİN MİKTARININ BELİRLENMESİ	18
3.7 ELISA YÖNTEMİ	18
3.8 İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	19
BÖLÜM 4 BULGULAR.....	21
4.1 DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİ	21
4.2 MİKRO BT ANALİZLERİ	21
4.3 HİSTOLOJİK ANALİZLER.....	23
4.4 TOTAL PROTEİN MİKTARININ BELİRLENMESİ	29
4.5 ELİSA ÇALIŞMALARI.....	29
4.5.1 IL1beta ELISA sonuçları	30
4.5.2 IL6 ELISA sonuçları.....	31
4.5.3 IL10 ELISA sonuçları	32
4.5.4 MMP-8 ELISA sonuçları.....	32
4.5.5 TGF- β ELISA sonuçları.....	33
4.5.6 TNF- α ELISA sonuçları.....	34
BÖLÜM 5 TARTIŞMA	37
BÖLÜM 6 SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 Dişte plak oluşumu.....	7
Şekil 3.1 Deneysel periodontitis modelini oluşturulması.....	16
Şekil 4.1 Kontrol grubuna ait görüntüler.	22
Şekil 4.2 Grup 1 sıçanlara ait görüntüler.....	22
Şekil 4.3 Grup 2 sıçanlara ait görüntüler.....	23
Şekil 4.4 Deney gruplarında alt çene mikrografları. Mandibula üzerinde dişler ve altındaki izlenmektedir. A: Kontrol B: Grup 1 C: Grup 2 (Stereomikroskop X16).....	24
Şekil 4.5 Deney gruplarında alt çene mikrografları. Bir hafta sonraya ait örnekte hiperemi izlenmektedir. A: Kontrol B: Grup 1 C: Grup 2 (Stereomikroskop X25).....	24
Şekil 4.6 Deney gruplarında alt çenenin daha büyük büyütmede mikrografları. Ligasyon yapılan alan koyu renkte izlenmekte, koyu renkteki granulasyon dokusu altında hiperemi gözlenmektedir. A: Kontrol B: Grup 1 C: Grup 2 (Stereomikroskop X40).	24
Şekil 4.7 Deney gruplarında alt çene kesitleri. Mandibula üzerinde diş kesitleri, çok katlı yassı gingival epitel, altındaki bağ dokusu, dişlerin tutunduğu alveol kemik izlenmektedir. A: Kontrol B: Grup 1 C: Grup 2 (Hematoksilen eosin X12,5).....	25
Şekil 4.8 Kontrol grubuna ait mikrograflar. Gingival epitel sement-mine bileşkesinde bütünlüğünü korumaktadır. Alveoler kemik ve periodontal ligamentin normal histolojik yapısı izlenmektedir. P: Pulpa, D: Dentin, PDL: Periodontal ligament, AB: Alveolar kemik, CEJ: Cement-mine bileşkesi (Hematoksilen-eosin A, B:X 40, Ai, Aii: X100).	26
Şekil 4.9 Ligasyondan 1 hafta sonrasına ait (Grup1) örnek kesitler. A, Ai, Aii, Bi- Ligasyon yapılan alanda gingival epitelin yerine granulasyon dokusu, sutur materyali (siyah ok), periodontal cep oluşumu, inflamasyon (beyaz ok) izlenmektedir. Bii-Ligasyon yapılmayan alanda iki diş arasında gingiva epiteli, altındaki bağ dokusunda periodontal ligament izlenmektedir. AB: Alveolar kemik CEJ: Cement-mine bileşkesi (Hematoksilen-eosin A, B:X 40, Ai, Aii, Bi, Bii: X100).	27
Şekil 4.10 Ligasyondan 2 hafta sonrasına ait (Grup 2) örnek kesit. Ai- İki komşu diş arası, B- Diş ve altındaki alveolar kemik ilişkisi Aii- Aiv- Dişin altındaki alanların büyük büyütmesi. Ligasyon yapılan alanda nekrotik doku (beyaz ok), belirgin inflamasyon (yıldız), osteoklast hücreleri (siyah ok) ile yer yer kemikte rezorbsiyon izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin, A:X 40, Ai, Aii, Aiii, B: X100, Aiv: X200)...	28
Şekil 4.11 Protein miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafiğe bir örnek.	29
Şekil 4.12 Elisa yöntemi örneği.	30
Şekil 4.13 Kalp dokularına ait IL1beta Elisa sonuçları (p=0,019).....	30

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.14 Kalp dokularına ait IL6 ELISA sonuçları (p=0,004).	31
Şekil 4.15 Kalp dokularına ait IL10 ELISA sonuçları (p=0,012).	32
Şekil 4.16 Kalp dokularına ait MMP-8 ELISA sonuçları (p=0,022)	33
Şekil 4.17 Kalpdokularına ait TGF- β ELISA sonuçları (p=0,021).	34
Şekil 4.18 Kalp dokularına ait TNF- α ELISA sonuçları (p=0,161).	35



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AgP	: Agresif periodontitis
BCA	: Bikinkoninik as
BSA	: Sığır serum albumin
CBB	: Commasie brillant blue
CP	: Kronik periodontitis
DMSO	: Dimetil sülfoksit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EGTA	: Etilen glikol tetraasetik asit
ELISA	: Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay
ESCC	: Özofagus skuamöz hücreli karsinom
IgG	: İmmüoglobulin GK
IL-10	: İnterlökin 10
IL-1 β	: İnterlökin 1 beta
IL-6	: İnterlökin 6
KVH	: Kardiyovasküler hastalık
MMP	: Matriks metallioproteaz
OSCC	: Oral skuamöz hücreli karsinom
PMSF	: Fenilmetilsülfonil florür
RA	: Romatoid artrit
TEMED	: Tetrametilendiamin
TNF	: Tümör nekroz faktör



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Periodontitis diş bütünlüğünü etkileyen bir hastalık olup diş çevresindeki doku ve kemikte görülür [1]. "Periodontitis" terimi iki kelimededen oluşur, bunlardan 'periodontal' – 'dişleri çevreleyen yapı' anlamına gelirken 'itis ise 'iltihap' anlamına gelir. Periodontal hastalıklar, eskiden beri çoğu insanı etkileyen ağız hastalıklarındandır. Çin ve Mısırlılar tarafından 4000 yıl kadar geçmiş bir süreçte inflamatuvar bir durum olarak tanımlanmıştır [2].

Periodontitis oldukça yaygın görülen bir sağlık durumu olup Dünya Sağlık Örgütü raporuna göre toplumun yaklaşık %15- 20'sinde periodontitis hastalığı görülmektedir [3]. Periodontitis gingivitis ile başlar. Gingivitis, diş çevresindeki bakterilerin başlattığı türde bir inflamasyondur [4]. Periodontitis, her zaman gingivitisten sonra oluşur, ancak bütün gingivitisler periodontitise dönüşmeyebilir [5].

Ağız boşluğunda yaklaşık 700 bakteri türü bulunur [6]. Bu bakterilerin sayıca artışı inflamatuvar reaksiyonları başlatır. Periodontitisin ilerlemiş halinde inflamasyona bağlı olarak dokularda parçalanma ve periodontal cep oluşumu görülür [7]. Periodontal cep, inflamasyonun ilerlemesini kolaylaştırır. Çünkü patojen bakteriler bu cebe yerleşerek bir baskı yaparlar ve dişte birikerek plak oluşumuna neden olurlar [8]. Sayıca artış gösteren patojen bakterilerin etkileri sadece diş ve diş dokusu ile sınırlı değildir, aynı zamanda sistemik dokular üzerinde de olumsuz etkileri söz konusudur [9]. Oluşan bu bakteri plağının kardiyovasküler hastalıklar [10], pulmoner hastalıklar [11], şeker hastalığı [12], romatoid artrit [13] gibi birçok hastalıklarda ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Periodontitisin ilerlemesi lizis ile olmaktadır ve bu yıkım ilk olarak yumuşak dokularda görülmeye başlar [14]. Bakterilerden salgılanan çeşitli faktörler de doku yıkımının ilerlemesine neden olur.

Tüm bu reaksiyonlara cevap olarak savunma hücreleri periodontitisli bölgede toplanır ve immün cevabı oluşturur [15]. Periodontitis daha da ilerlerse kemik kaybı ve diş dökülmesine neden olur [7].

Periodontitis patojenezinde doku yıkımını başlatan enzimler matrix metalloproteinazlardır [16]. Daha sonra bağışıklık hücreleri tarafından salgılanan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi sitokinler periodontitisin patolojisinin ilerlemesini hızlandırırlar [17].

Periodontitis; agresif periodontitis (AgP) ve kronik periodontitis (CP) olarak ikiye ayrılır. Agresif periodontitis inflamasyonun daha ilerlemiş halidir ve genellikle kemik kaybıyla sonuçlanır. Bu çalışmanın konusu, kronik periodontitis olup kronik periodontitis her yaşta görülebilen ve oldukça yavaş ilerleyen türüdür [18].

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1 PERİODONTAL HASTALIK

Periodontitis diş bütünlüğünü etkileyen bir hastalık olup diş çevresindeki doku ve kemikte görülür [1]. "Periodontitis" terimi iki kelimededen oluşur, bunlardan 'periodontal' – 'dişleri çevreleyen yapı' anlamına gelirken 'itis ise 'iltihap' anlamına gelir. Periodontal hastalıklar, eskiden beri çoğu insanı etkileyen ağız hastalıklarındandır. Çin ve Mısırlılar tarafından 4000 yıl kadar geçmiş bir süreçte inflamatuvar bir durum olarak tanımlanmıştır [2].

Periodontitis oldukça yaygın görülen bir sağlık durumu olup Dünya Sağlık Örgütü raporuna göre toplumun yaklaşık %15- 20'sinde periodontitis hastalığı görülmektedir [3]. Periodontitis gingivitis ile başlar. Gingivitis, diş çevresindeki bakterilerin başlattığı türde bir inflamasyondur [4]. Periodontitis, her zaman gingivitisten sonra oluşur, ancak bütün gingivitisler periodontitise dönüşmeyebilir [5].

Ağız boşluğunda yaklaşık 700 bakteri türü bulunur [6]. Bu bakterilerin sayıca artışı inflamatuvar reaksiyonları başlatır. Periodontitisin ilerlemiş halinde inflamasyona bağlı olarak dokularda parçalanma ve periodontal cep oluşumu görülür [7]. Periodontal cep, inflamasyonun ilerlemesini kolaylaştırır. Çünkü patojen bakteriler bu cebe yerleşerek bir baskı yaparlar ve dişte birikerek plak oluşumuna neden olurlar [8]. Sayıca artış gösteren patojen bakterilerin etkileri sadece diş ve diş dokusu ile sınırlı değildir, aynı zamanda sistemik dokular üzerinde de olumsuz etkileri söz konusudur [9]. Oluşan bu bakteri plağının kardiyovasküler hastalıklar [10] pulmoner hastalıklar [11], şeker hastalığı [12], romatoid artrit (RA) [13] gibi birçok hastalıkla da ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Periodontitisin ilerlemesi lizis ile olmaktadır ve bu yıkım ilk olarak yumuşak dokularda görülmeye başlar [14]. Bakterilerden salgılanan çeşitli faktörler de doku yıkımının ilerlemesine neden olur. Tüm bu reaksiyonlara cevap olarak savunma hücreleri periodontitisli bölgede toplanır ve immün cevabı oluşturur [15]. Periodontitis daha da ilerlerse kemik kaybı ve diş dökülmesine neden olur [7].

Periodontitis patojenezinde doku yıkımını başlatan enzimler matrix metalloproteinazlardır [16]. Daha sonra bağışıklık hücreleri tarafından salgılanan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi sitokinler periodontitisin patolojisinin ilerlemesini hızlandırırlar [17].

Periodontitis agresif periodontitis (AgP) ve kronik periodontitis (CP) olarak ikiye ayrılır. Agresif periodontitis inflamasyonun daha ilerlemiş halidir ve genellikle kemik kaybıyla sonuçlanır. Bu çalışmanın konusu, kronik periodontitis olup kronik periodontitis her yaşta görülebilen ve oldukça yavaş ilerleyen türüdür [18].

Kronik periodontal hastalıklar, dişleri ve periodontal destek dokularını etkileyen ve bazı durumlarda geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilen inflamatuvar hastalıkları içerir [19]. Kronik periodontal hastalık terimi, hem plağa bağlı gingivitise hem de kronik periodontitise atıfta bulunur. Plağa bağlı gingivitis, junctional epitelin iltihabıdır [20]. Ek olarak, periodontitisin en sık görülen formu olan kronik periodontitis, dişleri destekleyici dokularda hızlı, kemik dokusunda ise daha yavaş ilerleyen bir inflamasyon olup dişeti çekilmesi ile karakterize bir durumdur [21]. Kesitsel epidemiyolojik çalışmalar, dişeti iltihabının çocuklarda oldukça yaygın olduğunu [22] ve birçok yetişkini etkilediğini göstermiştir [23]. Ayrıca, kronik periodontitis, dünya çapında önemli bir sağlık problemidir [24].

Gingivitis, dental biyofilm birikiminin bir sonucu olarak gelişir. Mikroorganizma sayısındaki genel bir artış ve ağız florasının değişimi ile oluşur. Çalışmalar, periodontitisin gingivitisten geliştiği göstermektedir. Albandar ve diğ. (1998) kronik periodontitisin çok faktörlü bir hastalık olduğunu belirtmişlerdir. Bakterilerin rolü birincil olmakla birlikte, bir dizi konakçı ile ilgili faktörlerin çeşitli klinik sunumlarını ve ilerleme oranlarını etkilediği varsayılmaktadır [25-27].

2.2 PERİODONTİTİSİN NEDENLERİ

Ağız boşluğunda bulunan bakteriler ve bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar birçok çalışmanın konusu olmuştur [28]. Periodontitis bakteriyel inflamasyonların en önemlilerinden biri olup hastalığın sebebi ağız boşluğundaki plak oluşumundan sorumlu patojen bakterilerdir [29, 30]. Ağız boşluğunda tüm bakterilerin oluşturduğu bu koloniye mikrobiyotaya denir [31]. Bu geniş mikrobiyotadaki artan bakteri sayısı periodontitisin oluşumundaki ilk etkidir [32, 33] Bu bakteriler *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *C. recta* gibi türlerdir[34]. Diş etine yerleşen patojen bakterilerin salgıladığı toksinler ve mikrobiyal ürünler diş etinde inflamasyon ve doku zedelenmesine neden olabilirler [14]. Patojen bakterilerden salgılanan çeşitli faktörler doku yıkımına neden olan bir diğer etkidir [35]. Bu bakteriler dışında periodontal hastalık etiolojisinde Herpes virüsleri ve Epstein-Barr virüsleri de rol alırlar [36].

Sağlıklı diş eti dokusu ve orada yaşayan bakteriler arasında bir denge söz konusudur [37]. Hastalıklar, sigara kullanımı, stres, ağız bakımının yapılmaması, cinsiyet, yaş gibi çevresel faktörlerden dolayı bu denge bozulabilir ve periodontitisin ilerlemesi kolaylaşır [38]. Periodontitis, sistemik hastalıklarla birlikte de gelişebilir. Örneğin diyaliz uygulanan hastalarda görülme sıklığı sağlıklı bireylere göre daha yüksektir [39]. Bu nedenle periodontitis tanısında hastanın sistemik durumunun bilinmesi çok önemlidir.

2.3 PERİODONTİTİSİN OLUŞUM MEKANİZMASI

Temiz ve sağlıklı diş yüzeyinde gram (+) bakteriler baskınken inflamasyon ve plak oluşumuna bağlı olarak mikrobiyotada gram (-) bakteriler üstünlük gösterir [40]. Cebe yerleşen bu gram (-) bakteriler ve enzimleri doku bölgesinde lizise neden olur ve doku kemik bölgesinden ayrılır [14]. İnflamasyona bağlı olarak bakterilerin yerleşeceği bir alan oluşur ve bakteriler sayıca artış gösterirler. Buna bağlı oluşan yanıt, nötrofil ve lökosit gibi bağışıklık faktörlerinin dişetinde toplanmasına neden olur [41]. Nötrofiller, bakterileri fagositozla parçaladıkça nötrofillerden salgılanan toksik salgılar dokuya zarar verir ve böylece nötrofiller doğal bağışıklığın oluşmasını sağlarlar [15]. Nötrofiller doku yıkımına neden olan MMP'yi inflamasyonlu bölgeye salarlar. Periodontitisteki baskın MMP'ler MMP-8 ve MMP-9'dur [16]. En son süreçte ise bakterilerin çoğalması ve bakterilerden salgılanan toksik salgıların bölgeye zarar vermesine bağlı olarak bir cep oluşumu ve kemik kaybı görülür [7].

Periodontitis ilerledikçe cep derinleşir ve bakterilerin bu bölgedeki artışı hızlanır. Sayıca artan bakteriler konağın savunma mekanizmasını aşarak doku yıkımını başlatırlar[42].

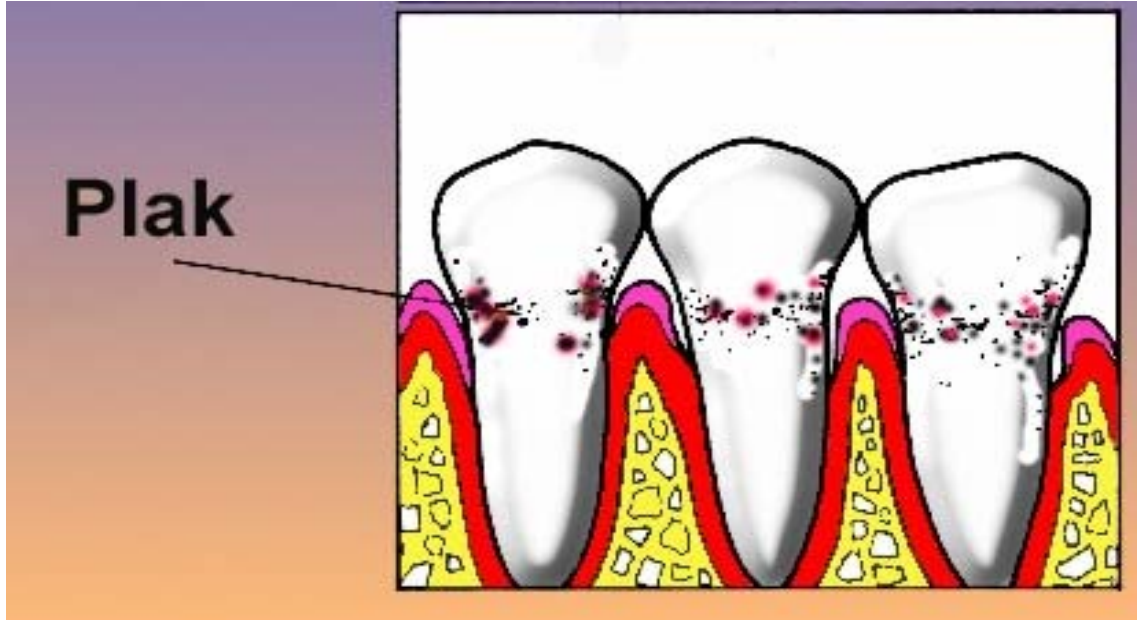
Periodontal doku yıkımında temel olarak TNF- α ve IL-1 β sitokin düzeylerinde artış görülür [43]. TNF- α , aktive olmuş monosit, makrofaj ve T lenfositleri gibi bağışıklık hücreleri tarafından salgılanır [44]. Plak yumuşak ve kireçsiz sert ve kireçlenmiş şekilde veya her ikisi de olabilir. Dişlerdeki plaklar için kalsiyum tükürükten, diş eti çizgisinin altındaki plaklar için ise kandan gelir [45]. Plak üzerinde ilk oluşum gingivitistir. Bazı durumlarda gingivitis, periodontitise dönüşür. Bu kişilerde diş eti liflerinde gelişen hasar sonucu, diş etinden ayrılan ve periodontal cep adı verilen bölgelerde subgingival mikroorganizmalar (diş eti çizgisinin altında bulunanlar) kolonileşir ve diş eti dokularında inflamasyona ve ilerleyen süreçte de kemik kaybına neden olur. Gingivitisin gelişim sürecinde diş plağı veya biyofilm denen yapılar patojen organizmalar için tutunma bölgesi oluşturur [45].

Güncel çalışmalar periodontitis oluşumundaki patojen organizmaların gram-negatif anaerobik bakteri, spiroket ve virüsler olabileceği bildirilmiştir; ancak kişiler arasındaki farklılığa bağlı olarak bir veya daha fazla tür hastalığı tetikleyebilir [45]. 2004'teki yapılan bir çalışmada üç tür gram negatif anaerobik türün *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* ve *Eikenella corrodens* patojen özellik gösterdiği bulunmuştur [46].

Bakterilerin inflamasyonlu bölgede çoğalması sonucu cebe olan baskısı artar, periodontitis kronik bir hal alır ve geri dönüşümü olmaz. Periodontitis gelişiminde çevresel faktörler de rol alır. Yapılan çalışmalarda sigara içenlerde, sigara içmeyenlere göre periodontitis ortaya çıkma olasılığı daha fazla bulunmuştur. Sigara içenlerin diş eti sıvısında TNF- α ve IL-8 seviyelerinin daha yüksek olduğu ve periodontal kemik yıkımının daha yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir [47, 48].

Diş ve diş etlerine verilen hasar bağışıklık sistemi tarafından oluşturulur. Bağışıklık sistemi oral dokular ve oral mikrobiyota arasındaki normal sembiyozu bozan patojenleri yok etmekle görevlidir. Diğer dokularda olduğu gibi, epitel dokulardaki langerhans hücreleri, antijenleri patojenden alır ve bunları beyaz kan hücrelerine sunar.

Bu süreç, kemiği tahrip etmeye başlayan osteoklastların ve ligamentleri tahrip eden matris metaloproteinazlarının aktivasyonuna neden olur [45]. Sonuç olarak hastalığı başlatan bakterilerdir, ancak ana yıkıcı olaylar, konağın bağışıklık sisteminden verdiği anormal yanıtıdır [46].



Şekil 2.1 Dişte plak oluşumu [49].

2.4 PERİODONTİTİSİN DİĞER HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ

İnsan ağız boşluğunda birçok bakteri bir arada yaşar [32]. Bu bakterilerin olumsuz etkileri sadece diş ile sınırlı kalmayıp aynı zamanda periodontitisin sistemik sağlığı da etkilediği bildirilmiştir [43]. Periodontal cep içindeki pro-inflamatuar sitokinler kan dolaşımına geçerek çeşitli organlara da zarar vermektedirler [50]. Periodontal enfeksiyonların, patolojisinde etkisi olduğu hastalıklar şeker hastalığı, kanser, akciğer iltihabı, alzheimer ve obezite gibi hastalıklardır [51-53].

Periodontitis kan şekeri metabolizması üzerinde de etkili olabilmektedir [54]. Diş etindeki bakterilere karşı salgılanan kimyasallar da insülin direnci gelişmesine yol açar ve tip 2 diyabet hastalığını tetikler [55]. Periodontal hastalık sırasında üretilen toksinler ve sitokinler plasenta zarını geçip gebeliği de olumsuz etkileyebilirler [56].

Periodontitisin kanserle de bağlantılı olduğu gösterilmiştir [57]. Güncel çalışmalarda periodontitis etkeni *P. gingivalis*, oral skuamöz hücreli karsinom (OSCC) ve özofagus skuamöz hücreli karsinom (ESCC) hastalarında daha yüksek fazla bulunmuştur [58, 59]. Ayrıca bu etkenin romatoid artrit oluşumunda önemli rolü vardır [60].

2.5 PERİODONTİTİSİN KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ

Yapılan çalışmalar periodontal hastalıkla kardiyovasküler hastalıklarla arasında da ilişki olduğunu göstermektedir [61]. Periodontal cep içinde hızla artış gösteren ve serbest kalan bakteriler damarlarda inflamasyon başlatır ve kalp krizine ortam hazırlarlar [62]. İnflamasyonlu bölgeden kan dolaşımına katılan bu bakteriler vücutta savunma hücrelerinin üretimini artırır. Bu hücrelerde çeşitli sitokinler salgılayarak kardiyovasküler hastalıkların, miyokardit ve endokardit gibi kronik inflamasyonlara neden olurlar [63].

Diş eti bağ dokusunda ve alveoler kemiğin proksimalinde bakteriler mevcuttur. Bu patojenlerin dolaşıma anatomik yatkınlığı, bakteriyemi riskini ve bakteri ürünleri ve immün komplekslerin sistemik yayılımını kolaylaştırır ve özellikle kalp dokusunu etkiler. Bakteriyemi, kalp hastalığı olanlar için riskli bir etkidir [10].

2.6 PERİODONTİTİS VE SİTOKİNLER

Sitokinler; hücre büyümesi, hücre iyileşmesi, inflamasyon ve bağışıklık olaylarını düzenleyen proteinlerdir. Birçok sitokin glikoprotein yapısındadır [64]. Makrofajlar, lenfositler, endotel hücreler ve lökositler tarafından üretilirler [65]. Hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanarak etkilerini gösterirler [66]. Genel olarak depolanmazlar ve salınımları geçicidir. Aynı hücrelerde etkileri farklı olabilir ve değişik şekillerde hücrelere etki ederler. Lenfositlerden salındığı zaman lenfokin, monosit ve makrofajlardan salındığı zamanda monokin, kemotaksiste etkili olanlarına kemokin, tek bir lökosit tarafından üretilenlere interlökin denir. Etki etme biçimine göre sınıflandırıldığında; sentezlendiği hücreyi aktive ediyorsa otokrin, komşu hücrelere etki ediyorsa parakrin, kan yoluyla taşınıp uzaktaki bir hücreyi aktive ediyorsa endokrin etki denir [67].

Sitokinler, bakteri ve bakteri ürünlerine karşı bir cevap olarak sentezlenir ve inflamasyonun devamlılığını sağlarlar. Sitokinler inflamasyon ve bağışıklığın başlamasıyla birlikte konak cevabın süresi ve şiddetini belirlerler.

Periodontal hastalığın gelişiminde sitokinlerin etkisi vardır [68]. TNF- α , IL-1 β ve IL-6 periodontal hastalığın oluşumunda ilk salınan sitokinlerdir [69]. Bunlardan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 proinflamatuvar sitokinler; IL-10 ve TGF- β antiinflamatuvar sitokinlerdir [17]. Proinflamatuvarlar iltihabı artıran, antiinflamatuvarlar inflamasyonu azaltan sitokinlerdir. Bütün bu sitokinlerin birbirleriyle farklı yollar üzerinden ilişkileri vardır ve yıkımın önlenmesi, durdurulması veya baskılanması için aralarındaki dengenin sağlanması gerekir [70].

2.6.1 Tümör Nekroz Edici Faktör (TNF- α)

Birçok hücre tarafından salgılanan bağışıklık yanıtının oluşmasında görevli 185 aminoasitlik bir glikoprotein hormonudur [71]. TNF- α , nötrofilleri, aktive ederek bakterileri öldürür [72]. Yara bölgesindeki hücelere etki ederek IL-1 ve IL-6'nın kan dolaşımına katılmasını sağlar [73].

Damar düz kaslarını gevşeterek kan basıncını azaltır. Damar iç yüzeyinde pıhtılaşma öncülleri arasındaki dengeyi etkileyerek pıhtılaşma sistemini aktive eder. Nötrofil aktivitesi ve MMP salınımını sağlar. Diş etinde inflamasyon artmasına bağlı olarak TNF- α miktarı da artar ve periodontitis oluşumunda direkt etkilidir [74]. Farklı hücreler üzerinde bağışıklık düzenleyici etki de gösterir.

2.6.2 İnterlökin 1- β

IL1 β 'nin biyolojik etkileri TNF- α ile benzerdir [44]. Periodontal hastalıkta bağ dokusu yıkımının başlangıç ve ilerleme safhasında rol alır [75]. Yüksek miktarda salgılandıklarında kan dolaşımına girip endokrin etki gösterirler. İnterlökin-1 β , ayrıca diğer mediyatörlerin (TNF- α , IL-6, MMP v.s) üretilmesine aracılık eder [76].

Yapılan çalışmalarda periodontitisli bireylerde IL-1 β seviyesinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek seviyede olduğu görülmüştür ve tedavi sonrası bu seviyelerin düştüğü bildirilmiştir

[77]. Literatürle oluşturulmuş bu deneysel periodontitis modelinde sıçanlara uygulandığında 2 hafta sonunda kemik kaybının, kontrol grubuna göre daha fazla olduğu gözlenmiştir.

IL-1 β 'nın periodontal hastalıktaki yeri geçmişte pek çok araştırmaya konu olmuştur [76]. Yapılan çalışmalarda bakteri plağı uzaklaştırılıp iyileşme görüldüğünde IL-1 β düzeylerinde azalma gözlenmiştir [78]. Ayrıca inflamasyon bölgede diğer hücreleri de etkileyerek kemik yıkımını da artırır. Bu yüzden doku hasarının yanında inflamasyon belirleyicisidir [79].

2.6.3 İnterlökin-10

T hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilirler. Bağışıklık yanıtında rol oynayan inflamasyonu azaltarak periodontitisin kontrol edilmesinde rol alır [80]. Bakteriyal ve viral enfeksiyonlar sonucu oluşan doku yıkımını ve makrofajlar tarafından IL-1 β , TNF- α üretimini engellerler. IL-10 salınımını yapan lökositlerin periodontitiste arttığı görülmüştür [81].

Periodontal hastalığın ilerlemesinde IL-10'un önemi hayvan çalışmalarıyla da kanıtlanmıştır. IL-10'un akut iltihabi yanıtın başlamasında rolü olduğu düşünülmektedir. Ayrıca MMP'lerin üretimini azaltarak doku yıkımının engellenmesine aracılık eder. Yani IL-10 antiinflamatuvar sitokin olarak görev yapar. Doku yıkımını azaltıkça inflamasyonun yayılması da önlenmiş olur.

2.6.4 Transforming büyüme faktörü- β (TGF- β)

Endotelial hücreler, T hücreleri ve makrofajlar tarafından sentezlenebilirler. TGF ailesinde 5 üye vardır. TGF- β 'nın periodontal yara iyileşmesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir [82]. TGF, matriks proteinlerinin sentezini artırarak doku yenilenmesini hızlandırır [83]. Bu büyüme faktörü iyileşme ve doku bütünlüğünün sağlanmasında görevlidir. TGF- β , TNF- α 'nın aksine kollajen proteininin sentezini artırır. Nötrofilleri inflamasyon bölgesine çekerek yara iyileşmesini sağlar. Ayrıca yara iyileşme sürecinde hücre çoğalması ve hücre bölünmesini tetikler ve doku yapımını hızlandırarak bağışıklık yanıtını düzenlerler [84].

2.6.5 İnterlökin-6

Fibroblast ve epitel hücreler tarafından sentezlenirler. Periodontitisin ilerlemesinde etkin olarak rol alırlar. Hem inflamasyonu başlatıcı hem de azaltıcı özelliğe sahiptirler [66].

İnflamasyonlu alanda artış gösteren IL-6 seviyesi kollajen proteininin sentezini azaltarak kemik yıkımına neden olur [85]. Ayrıca IL-6, inflamasyonlu diş dokusunda IgG miktarındaki artırarak inflamasyonun azaltılmasını sağlar. Bağışıklık hücreleri ve kemik hücrelerinin çoğalması ve aktivasyonunda görevlidir [86]. Yara bölgesinde TNF miktarını da azaltarak düzenleyici etkiye sahiptir [87]. Böylece proinflamuar sitokinlerin dengesini sağlamış olur. Yapılan çalışmalarda iltihap oluşumundan sonra serumda da yüksek düzeyde tespit edilmiştir [88].

2.6.6 Matrix metallioproteinase-8 (Kollajenaz Tip 2= MMP-8)

MMP-8, çinko içeren herhangi bir yaralanma ve inflamasyona bağlı protein ve doku yıkımını başlatan enzimdir [89]. Uzun süreli MMP-8 salınımı doku yıkımına bağlı olarak dişte yapısal değişikliklere neden olur. MMP'ler fibroblast, makrofaj, epitel hücreleri, nötrofiller ve kondrositler tarafından sentezlenirler [90]. Periodontitis hastalığında MMP-8 miktarı serumda artış göstermektedir [91]. MMP-8 seviyesi periodontal doku yıkımıyla doğru orantılıdır [92]. İltihap olan bölgede aşırı artış gösteren MMP-8 kollojen proteini doku yıkımına yol açar [93]. Sonuç olarak literatürdeki bilgiler dâhilinde MMP-8'nin periodontal hastalıklardaki doku yıkımında etkisi büyüktür.



BÖLÜM 3

GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 GEREÇLER

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu onayı (Toplantı tarihi: 8 Şubat 2018, Karar no: 2018/02-3) alındıktan sonra çalışmamız Bülent Ecevit Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinde üretilen 20 adet dişi Wistar ratlar kullanılarak gerçekleştirildi. Ratlar rahatça hareket edebilecekleri alanlara sahip, yem ve su kaplarının kafese monte edilen plastik kafeslerde barındırıldı. Ratlar çeşme suyu ve standart rat yemi ile beslendi. Deney hayvanları ağırlıkları 200- 220 gr arasında değişen, herhangi bir hastalığı bulunmayan ve daha önce herhangi bir çalışmada kullanılmamış ratlar arasından seçildi. 20 adet rat arasından rastgele seçilerek 3 grup oluşturuldu.

Kontrol Grubu (7 adet): Bu ratlara herhangi bir işlem uygulanmadı.

Grup 1 (7 adet): Bir hafta sonunda sakrifiye edilen grup

Grup 2 (6 adet): İki hafta sonunda sakrifiye edilen grup

Doku ekstraktlarının hazırlanması aşamasında kullanılan Complete, EDTA Free proteaz inhibitörleri karışımı içeren tabletler Roche Applied Science'dan (Upper Bavaria, Almanya); EDTA, pH 8,0, Teknova'dan (Hollister, CA, ABD); aprotinin, löpeptin, bestatin, pepstatin Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) sağlandı. Protein miktarlarının tayininde kullanılan BCA Protein Assay kiti Thermo Fisher Scientific Pierce Protein Research Products'tan (Rockford, IL, ABD); Bradford temeline dayalı ölçüm yapılan Bio-Rad Protein Assay kiti Bio-Rad'dan (Hercules, CA, ABD) temin edildi. SDS-PAGE analizlerinde kullanılan % 30 Akrilamid/Bis çözeltisi Bio-Rad'dan (Hercules, CA, ABD) temin edildi.

Çalışmanın farklı aşamalarında kullanılan genel kimyasallardan sodyum klorür, sodyum ortovanadat, β -gliserofosfat, sodyum florür, Trizma base, Tris-HCl, bromfenol mavisi, 2-propanol, aprotinin, löpeptin, sodyum dodesil sülfat, gliserol, etilendiamintetraasetik asit sodyum tuzu (EDTA), etilen glikol tetraasetik asit (EGTA), 4-(2-Hidroksietil)piperazin-1-etansülfonik asit (HEPES), glisin, Igepal, hidrojen peroksit, β -Merkaptoetanol, N,N,N',N'-tetrametiletilendiamin (TEMED), Tween-20, Triton X-100, fenilmetansülfonil florür (PMSF), Commasie brilliant blue (CBB) G250, sığır serum albumini (BSA), hidroklorik asit, etanol, metanol, sodyum hidroksit, sodyum asetat, kalsiyum klorür, potasyum klorür, magnezyum klorür, MOPS, potasyum klorür, potasyum hidroksit, potasyum fosfat dibazik, monobazik, sodyum fosfat dibazik ve monobazik, dimetil sülfoksit (DMSO), Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD), Bio-Rad'dan (Hercules, CA, ABD) ve Merck'ten (Darmstadt, Almanya) satın alındı. Yağsız süt tozu Cell Signaling (Danvers, MA, ABD) firmasından temin edildi.

Protein miktarı tayinlerinde ve mikro-plaka kullanılarak yapılan tüm diğer çalışmalarda Molecular Devices (Sunnyvale, CA, ABD) firmasına ait SpectraMax M2 model mikropilaka okuyucular kullanıldı. Protein analizleri aşamasında, poliakrilamid jel elektroforezi çalışmaları Bio-Rad (Hercules, CA, ABD) firmasına ait Mini-PROTEAN Tetra cell, Mini-PROTEAN III model ve Fisher Scientific (Portsmouth, NH, ABD) firmasına ait elektroforez sistemleri; Bio-Rad (Hercules, CA, ABD) firmasına ait Trans-Blot elektroforetik transfer sistemi kullanıldı.

Görüntüleme işlemlerinde Bio-Rad (Hercules, CA, ABD) firmasına ait Gel Doc XR+ System ve otoradyografi filmlerine aktarılan görüntülerin analizi amacıyla da GE Healthcare (Buckinghamshire, İngiltere) firmasına ait Amersham Hyperprocessor otomatik film banyo makinası kullanıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan ImageQuant yazılımı GE Healthcare (Buckinghamshire, İngiltere) firmasından temin edildi.

Çalışmanın farklı aşamalarında değişik amaçlar için genel laboratuvar cihazları olarak Du Pont (Newtown, CT, ABD) marka Sorvall RC-5B santrifüj, Eppendorf (Hamburg, Almanya) marka 5417 model soğutmalı santrifüj, Shimadzu (Kyoto, Japonya) marka UV-1700 model UV/Visible spektrofotometreler, Sanyo (Osaka, Japonya) marka -80°C dondurucu, New Brunswick (Edison, NJ, ABD) marka çalkalayıcı inkübatör, Barnstead (Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD) Nanopure ultra saf su sistemi, elektroforez için güç kaynakları (Bio-Rad, Hercules, CA, ABD), çalkalayıcı, ısıtma bloğu, manyetik karıştırıcı, vorteks (Fisher

Scientific, Pittsburgh, PA, ABD), pH metre (HANNA, Woonsocket, RI, ABD) ve Thermo Scientific (Waltham, MA, ABD), analitik ve kaba teraziler (Mettler Toledo, Columbus, OH, ABD), mikrodalga fırın, otoklav (Steris/Amsco, Mentor, OH) kullanıldı.

3.2 DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİ

Periodontitis oluşturmak için çalışmamızda kullanılan gruptaki ratlara intraperitoneal enjeksiyon yöntemiyle 10 mg/kg Xylazine ve 90 mg/kg Ketamin anestezisi yapıldı. Anestezi derinliği parmak kısıtma yöntemiyle kontrol edildi. Anesteziye giren ratların sağ alt birinci molar dişlerine submarjinal olarak ipek suture (Doğsan Tıbbi Malzeme San. A.Ş. Trabzon/TURKEY) uygulandı. Ligatürler submarjinal yerleştirilip bukkalde düğümlendi. Bu bölgede plak retansiyonu sağlamak koşuluyla deneysel periodontitis oluşturuldu (Garcia, Longo et al. 2013). Daha sonra derin anestezisi altında tüm ratlar sakrifiye edilerek ratlardan kalp dokuları alındı. Onbeşinci gün derin ve uygun anestezisi protokolü ile ratların göğüs kafesleri açılarak 10 ml'lik enjektörle "intrakardiyak" olarak kalplerinden kan alındı. Alt çeneleri ratın baş kısmından ayrılarak çıkartıldı. Diş etrafındaki yumuşak doku ve dişeti serum fizyolojik ile yıkanarak biyokimyasal ve histopatolojik analizlerde kullanılmak için -80°C' de saklandı.



Şekil 3.1 Deneysel periodontitis modelini oluşturulması

3.3 MİKRO-BT ANALİZLERİ

Mikro-BT yöntemi kemik morfolojisi ve mikromimarisini incelemek amacıyla kullanılan altın standart bir yöntemdir. Mikro- BT yöntemi, X ışını zayıflaması vasıtasıyla elde ettiği dataları materyal yoğunluğunun uzaysal dağılımını ifade eden 3 boyutlu bir temsil oluşturmak için kullanır. Günümüzdeki Mikro-BT cihazları çözünürlüğü birkaç mikrometreye kadar düşebilen izotropik voksel boyutları elde eder [94]. Çalışmamızda Mikro-BT taramaları Skyscan 1275 (Skyscan, Kontich, Belgium) cihazı ile gerçekleştirdi. Taramalar 80 kvp, 125 mA, pixel kesit aralığı 18 um rotation step 0,4, Frame Averaging 3 ayarları ile yapıldı ve 360 derecede çekim olarak belirlendi.

1mm kalınlığında alüminyum filtre kullanılarak çekim sırasındaki artefaktlar en aza indirildi. Geriye kalan artefaktları gidermek için NRecon (versiyon 1.6.4.8 Skycan, Kontich, Belgium) yazılımı kullanılarak taranmış her bir numune ayrı ayrı rekonstrüksiyonu yapıldı. Bu yazılım sayesinde Ring Artifact Correction, Smoothing, Beam Hardening Correction ve Postalignment düzeltmeleri uygulandı. Rekonstrüksiyon sonucu numunelerin iki boyutlu aksiyel kesitleri elde edildi.

Alveoler kemik farkını görebilmek için için görüntülerin midcoronal ve midsagittal görüntüleri Dataviewer (versiyon 1.5.6.2 Skycan, Kontich, Belgium) yazılımı ile elde edildi. Aksiyel kesitler bu yazılıma yüklendikten sonra koronal, sagittal görüntüler oluşturuldu. Daha önce 1. küçük azı dişinin kokleri arasındaki periodontit modeli seçildi. Sonra alveoller kemikte sagittal ve coronal kesitlerde alveoller yıkımlar otomatik olarak görüntüledi. 3 grubun aynı kesitleri tecrubeli 2 ayrı anatomist tarafından değerlendirildi.

3.4 HİSTOLOJİK ANALİZLER

Alınan örnekler 2 gün %4 paraformaldehitde fikse edildikten sonra 0.33 M EDTA ile EDTA solüsyonu iki günde bir değiştirilerek 5 hafta dekalsifiye edildi. Bu arada stereomikroskop altında örnekler fotoğraflandı. Dekalsifikasyon sonrası örnekler ışık mikroskobunda incelenmek üzere takip edildi. Takip için örnekler yükselen derecede alkollerden geçirildikten sonra parafine gömüldü. Örneklerden alınan 5µm kalınlıktaki kesitler deparafinizasyon sonrası Hematoksilen-eosin ile boyandı ve dijital kamera (Leica, DFC7000T Wetzlar, Almanya) bağlı ışık mikroskobunda (Leica DM6B) incelendi ve fotoğraflandı.

3.5 DOKU ÖRNEKLERİNİN HOMEJENİZASYONU

Derin anestezi (10 mg/kg Xylazine ve 90 mg/kg Ketamin) altında ratlardan alınıp biyokimyasal analizlere kadar -80°C'de muhafaza edilen karaciğer ve kalp dokuları, hassas terazide tartılarak darası alınmış tüplere kondu. Dokular temiz bir alanda bistüri yardımıyla olabildiğince küçük parçalara (1-2 mm³) ayrıldı. Ratlardan elde edilen doku numuneleri, 50 mM Tris-Cl (pH: 7,5), 250 mM NaCl, 3 mM EDTA, 1% Triton x-100, 0,5% Igepal, 10% gliserol, 1 mM fenilmetilsülfonil florür (PMSF), 0,1 mM Na₃VO₄, 10 mM NaF içeren ekstraksiyon tamponunda süspansiyon haline getirildi ve buz üstünde homojenize edildi.

Daha sonra, 3 kez 30 saniye süreyle sonikasyona tabi tutuldu. 13000xg'de santrifüj edilerek elde edilen süpernatantlar, analiz edilene kadar -80 ° C'de saklandı.

3.6 TOTAL PROTEİN MİKTARININ BELİRLENMESİ

Protein miktarlarının tayininde Bradford yöntemi (Bradford 1976) temeline dayanan bir protein ölçüm kiti (Bio-Rad) kullanıldı. Bradford'un mikro-yöntemine göre mikropilaya kullanarak protein ölçümü, ticari kitin protokolüne uygun olarak yapıldı. Bu şartlarda, standartlar için doğrusal aralık 8-80 µg/ml olarak belirtilmiştir (Bio-Rad).

Örneklerin içeriğinde, Bradford yöntemi ile interferansa neden olan, belirli derişimin üzerinde deterjan gibi kimyasallar bulunduğunda, bu yöntem yerine BCA (bicinchoninic acid) temeline dayalı deterjanlarla uyumlu protein ölçüm kiti (Pierce) kullanıldı. Standart yöntemle mikropilaya kullanılarak ölçüm için doğrusal çalışma aralığı 20-2.000 µg/ml, mikro yöntem kullanıldığında 2-40 µg/ml olarak belirtilmişti (Pierce, Pierce).

Bütün çalışmalarda protein standardı olarak sığır serum albümini (BSA) kullanıldı.

3.7 ELISA YÖNTEMİ

Ratlardan alınan karaciğer ve kalp dokusu ile serum örneklerinde ELISA yöntemiyle sitokin miktarları belirlendi. Homojenattaki protein konsantrasyonu, Bio-Rad Protein Assay kiti ile belirlendi. Bütün sitokinler için uygulanan metot şu şekildedir:

Spesifik monoklonal antikorla kaplı kuyucuklar üzerine 50µl konsantrasyonları bilinen standartlar ve blank ve standart kuyucukları hariç 40 µl örnekler eklenmiştir. İkinci aşamada 50 µl Streptavidin-HRP ve 10 µl antikor eklenip 37C' de 60 dk inkübe edilmiştir. Ardından antikor fazlasının ve bağlanmayanların uzaklaştırılması için yıkıma solüsyonları hazırlanarak yıkama işlemi uygulanmıştır ve well iyice kurutulmuştur. 50 µl kromojen-A ve 50 µL kromojen-B konulup 37 C' de karanlıkta inkübe edilir. Sonuçta kuyucuklarda mavi renklenme oluşur. Reaksiyonu durdurmak için 50 µl stop solüsyonundan eklenmiştir ve oluşan sarı rengin yoğunluğu 450 nm. spektrofotometrede okunmuştur. Konsantrasyon değerleri önceden belirlenmiş standartlar ile bir kalibrasyon eğrisi elde edildi ve bu eğriye göre sonuçların ortalamaları alınıp konsantrasyonları bulundu.

3.8 İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

SPSS yazılımı kullanılarak ikiden fazla grup karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi, anlamlı fark bulunan örneklerde ikili grup karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır.





BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1 DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİ

Çalışmamızda, Zonguldak Bülent Ecevit Üniveristesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinde üretilen 20 adet dişi Wistar ratlar kullanılarak oluşturulan deneysel periodontitis modeli, 3 grupta incelendi:

Kontrol Grubu (7 adet) : Bu ratlara herhangi bir işlem uygulanmadı.

Grup 1 (7 adet): Bir hafta sonunda sakrifiye edilen grup

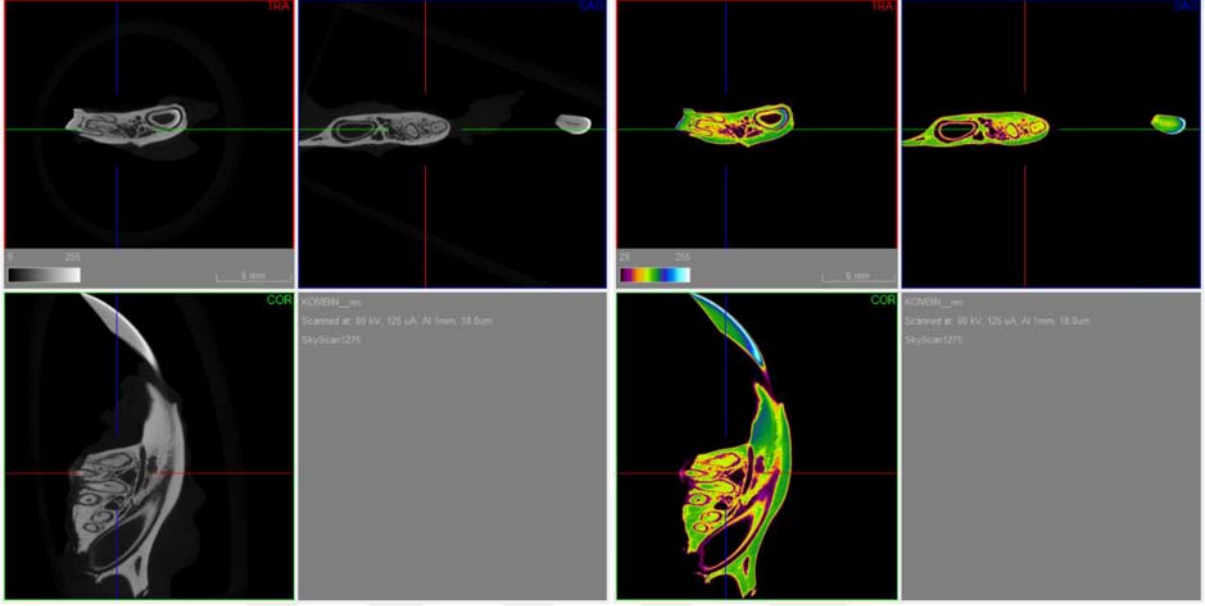
Grup 2 (6 adet): İki hafta sonunda sakrifiye edilen grup olarak oluşturuldu.

4.2 MİKRO BT ANALİZLERİ

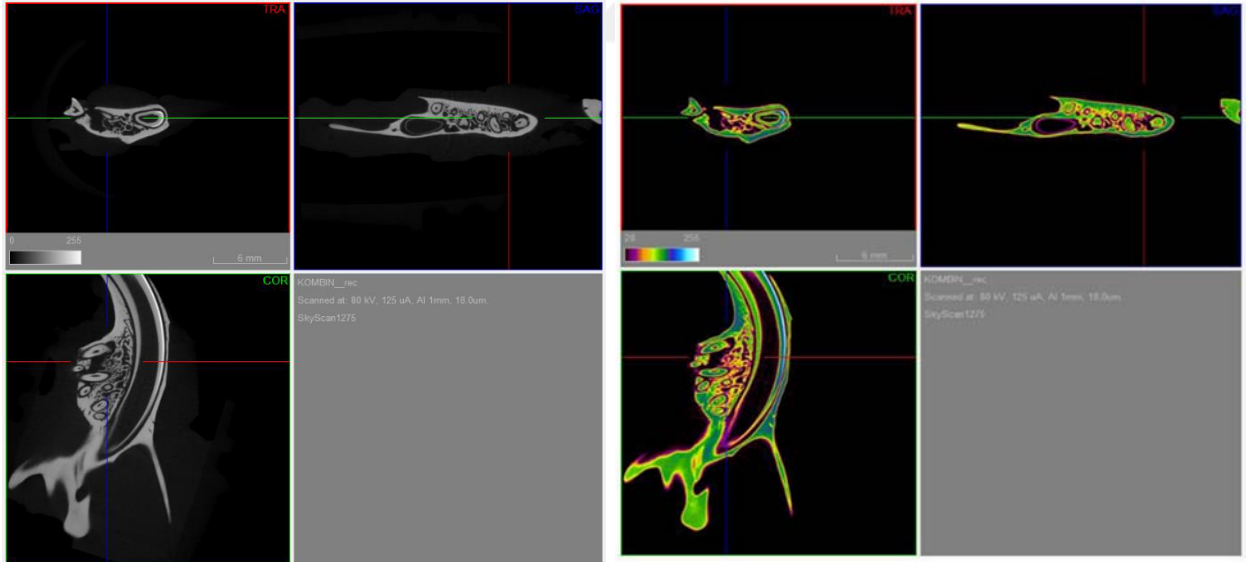
Çalışmamızda Mikro-BT taramaları Skyscan 1275 (Skycan, Kontich, Belgium) cihazı ile gerçekleştirdi. Taramalar 80 kVp, 125 mA, pixel kesit aralığı 18 µm rotation step 0,4, Frame Averaging 3 ayarları ile yapıldı ve 360 derecede çekim olarak belirlendi. 1mm kalınlığında alüminyum filtre kullanılarak çekim sırasındaki artefaktlar en aza indirildi. Geriye kalan artefaktları gidermek için NRecon (versiyon 1.6.4.8 Skycan, Kontich, Belgium) yazılımı kullanılarak taranmış her bir numune ayrı ayrı rekonstrüksiyonu yapıldı. Bu yazılım sayesinde Ring Artifact Correction, Smoothing, Beam Hardening Correction ve Postalignment düzeltmeleri uygulandı. Rekonstrüksiyon sonucu numunelerin iki boyutlu aksiyel kesitleri elde edildi.

Alveoler kemik farkını görebilmek için için görüntülerin midcoronal ve midsagittal görüntüleri Dataviewer (versiyon 1.5.6.2 Skycan, Kontich, Belgium) yazılımı ile elde edildi. Aksiyel kesitler bu yazılıma yüklendikten sonra koronal, sagittal görüntüler oluşturuldu. Alveoler

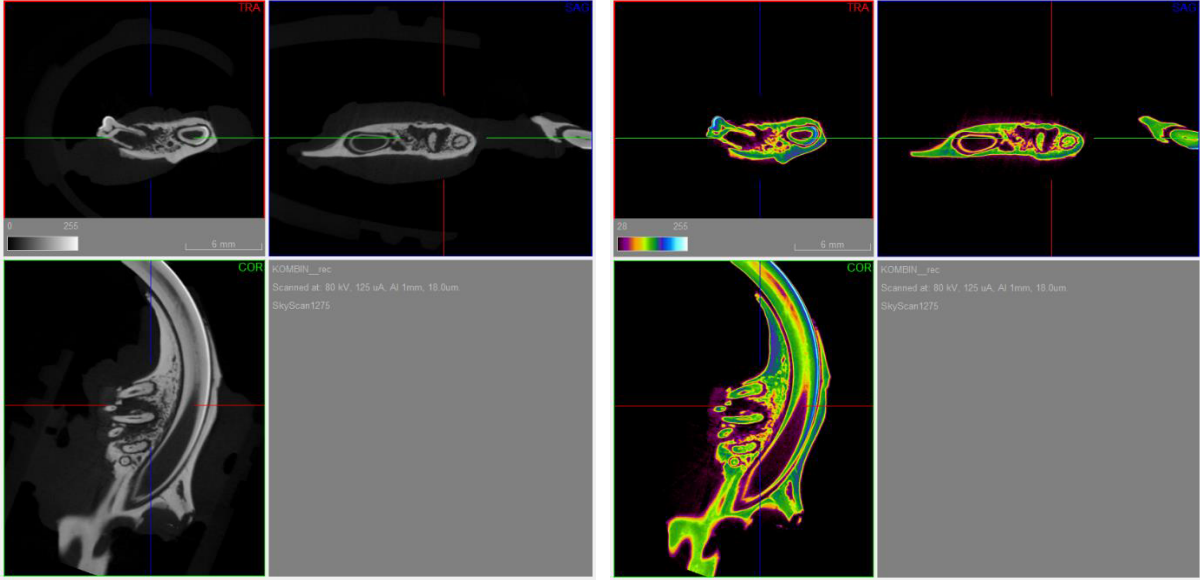
kemikte sagittal ve coronal kesitlerde alveoler yıkımlar otomatik olarak görüntüledi. Üç grubun aynı kesitleri, tecrübeli 2 ayrı anatomist tarafından değerlendirildi.



Şekil 4.1 Kontrol grubuna ait görüntüler.



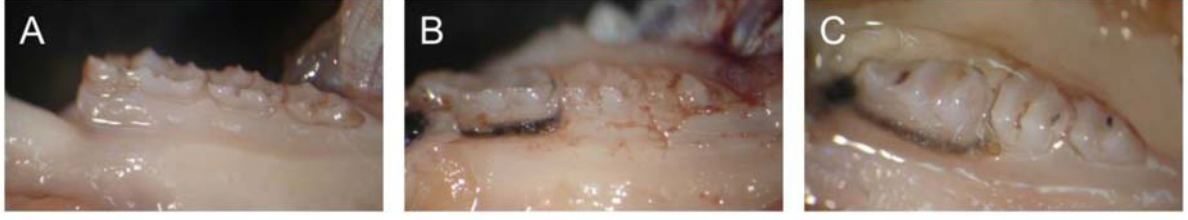
Şekil 4.2 Grup 1 sıçanlara ait görüntüler.



Şekil 4.3 Grup 2 sıçanlara ait görüntüler.

4.3 HİSTOLOJİK ANALİZLER

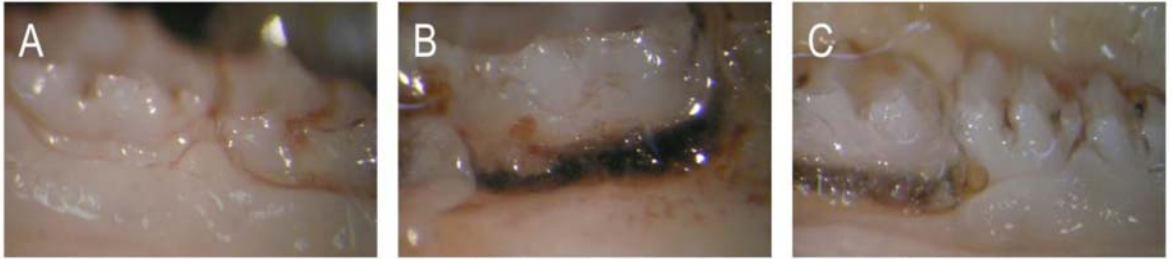
Deney gruplarına ait mandibula örneklerinin ışık mikroskop incelemesinden önce stereomikroskop ile yapılan incelemesinde mandibula üzerinde yerleşmiş dişler, ligasyon yapılan alanda koyu renkte granülasyon dokusu, birinci haftaya ait örnekte diş etinde hiperemi izlendi (Şekil 4.4, 4.5, 4.6). Örneklerin kesitlerinde mandibula üzerinde diş kesitleri, çok katlı yassı gingival epitel, altındaki bağ dokusu, dişlerin tutunduğu alveol kemiği gözlemlendi (Şekil 4.7). Kontrol grubunda gingival epitel bütünlüğünü koruyordu. Ortokeratinize ve keratinize olmayan çok katlı yassı epitel altında lamina propriayı oluşturan bağ dokusu gözlemlendi. Bileşke epiteli, sement-mine bileşkesinde devamlıydı. Alveoler kemik ve periodontal ligamentin normal histolojik yapısı izlendi (Şekil 4,8). Bir haftaya ait örneklerde gingiva epitelinin yer yer bozulduğu gözlemlendi. Suture ile ligasyon yapılan alanda çok katlı yassı gingiva epitelinin olmadığı, suture materyaline ait kesit ve granülasyon dokusu izlendi. Epitelin olmadığı bu alanda periodontal cep oluşumu, lamina propriada inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Şekil 4.9). Ligasyon yapılmayan alanda ise iki diş arasında gingiva epiteli, altındaki bağ dokusunda periodontal ligament gözlemlendi. İkinci haftaya ait örnek de ligasyon yapılan alanda yer yer nekrotik doku, diş kökünün altındaki dokudan ayrılması, periodontal ligamende bozulma, belirgin inflamasyon, osteoklast hücreleri ile alveolar kemikte rezorbsiyon gözlemlendi (Şekil 4.10).



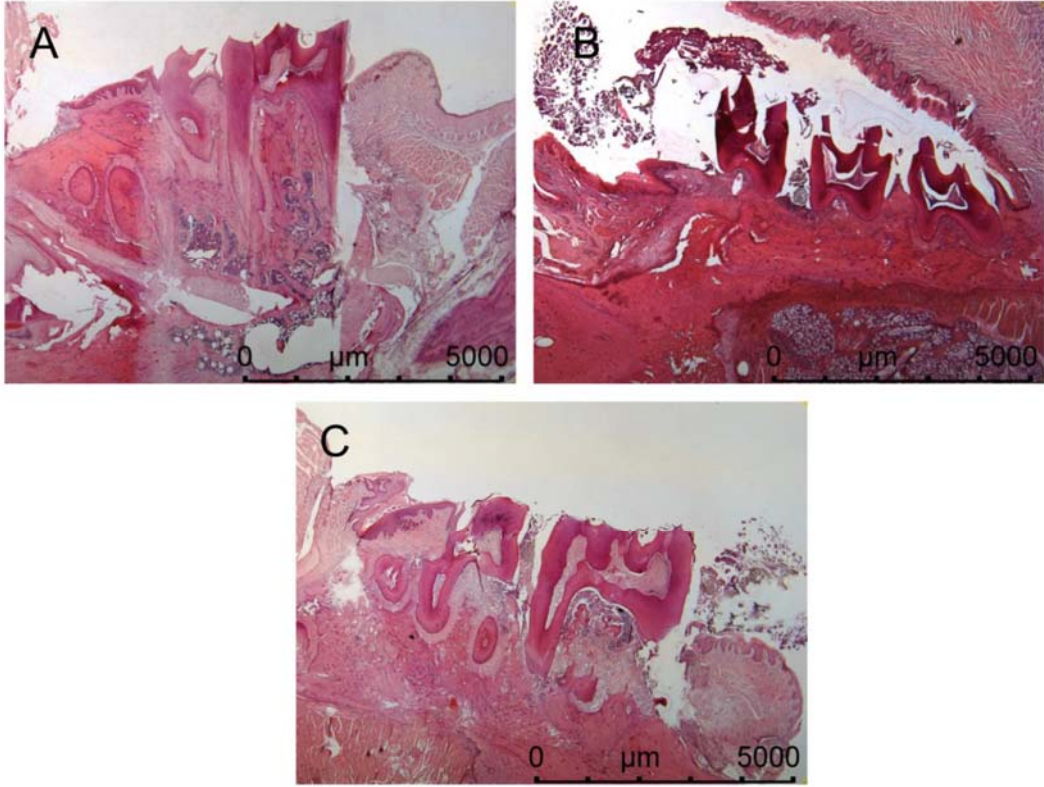
Şekil 4.4 Deney gruplarında alt çene mikrografları. Mandibula üzerinde dişler ve altındaki izlenmektedir. A: Kontrol B: Grup 1 C: Grup 2 (Stereomikroskop X16).



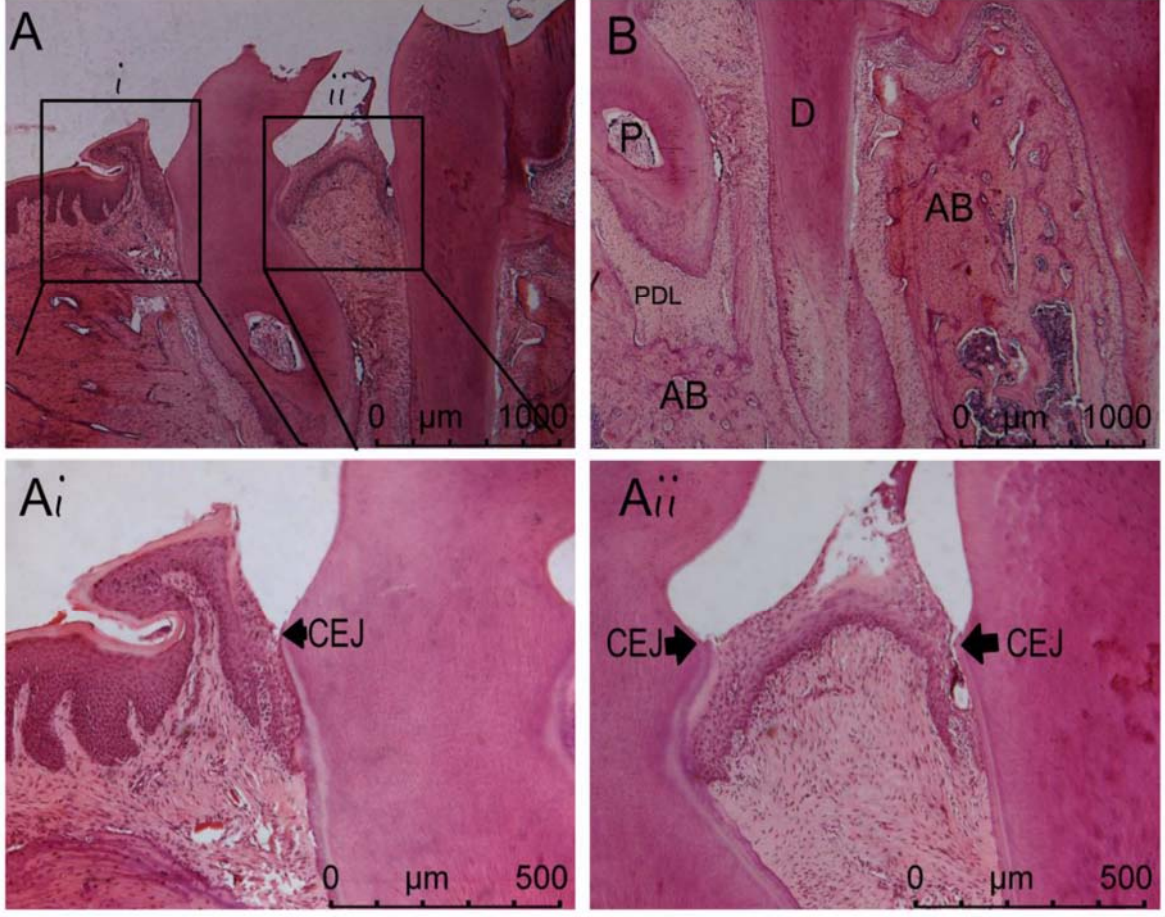
Şekil 4.5 Deney gruplarında alt çene mikrografları. Bir hafta sonraya ait örnekte hiperemi izlenmektedir. A: Kontrol B: Grup 1 C: Grup 2 (Stereomikroskop X25).



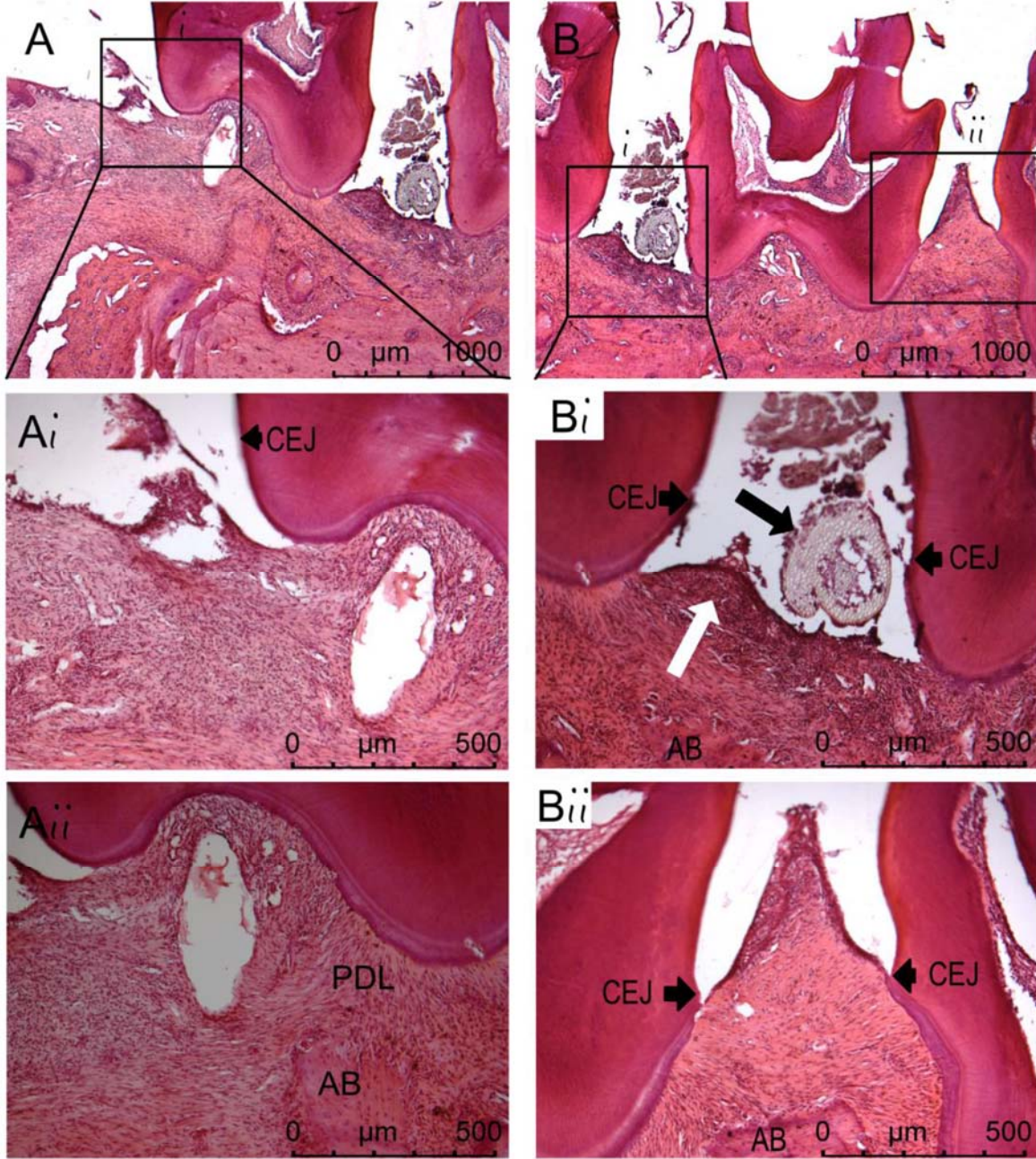
Şekil 4.6 Deney gruplarında alt çenenin daha büyük büyütmede mikrografları. Ligasyon yapılan alan koyu renkte izlenmekte, koyu renkteki granülasyon dokusu altında hiperemi gözlenmektedir. A: Kontrol B: Grup 1 C: Grup 2 (Stereomikroskop X40).



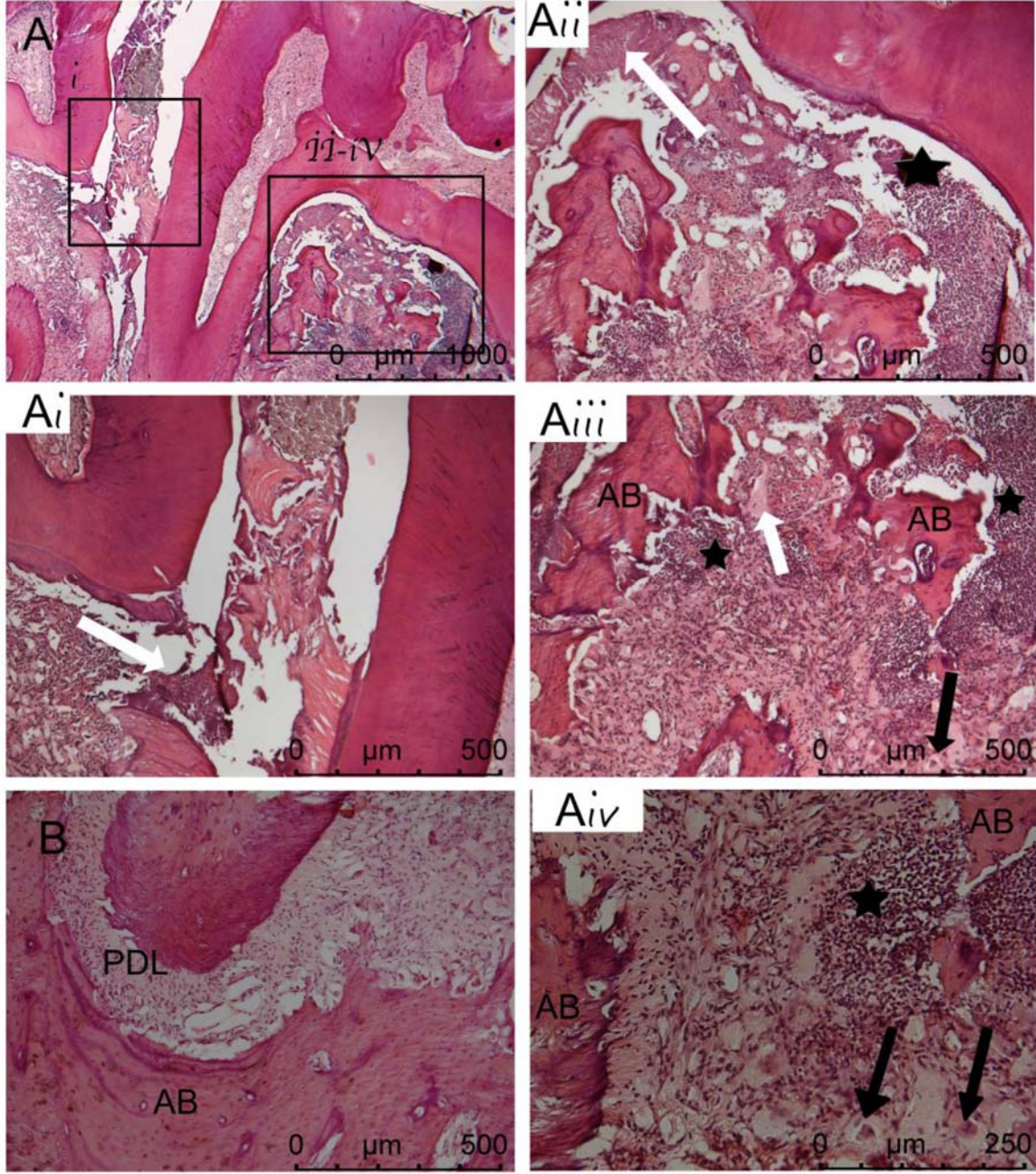
Şekil 4.7 Deney gruplarında alt çene kesitleri. Mandibula üzerinde diş kesitleri, çok katlı yassı gingival epitel, altındaki bağ dokusu, dişlerin tutunduğu alveol kemik izlenmektedir. A: Kontrol B: Grup 1 C: Grup 2 (Hematoksilen eosin X12,5).



Şekil 4.8 Kontrol grubuna ait mikrograflar. Gingival epitel sement-mine bileşkesinde bütünlüğünü korumaktadır. Alveoler kemik ve periodontal ligamentin normal histolojik yapısı izlenmektedir. P: Pulpa, D: Dentin, PDL: Periodontal ligament, AB: Alveolar kemik, CEJ: Cement-mine bileşkesi (Hematoksilen-eosin A, B:X 40, Ai, Aii: X100).



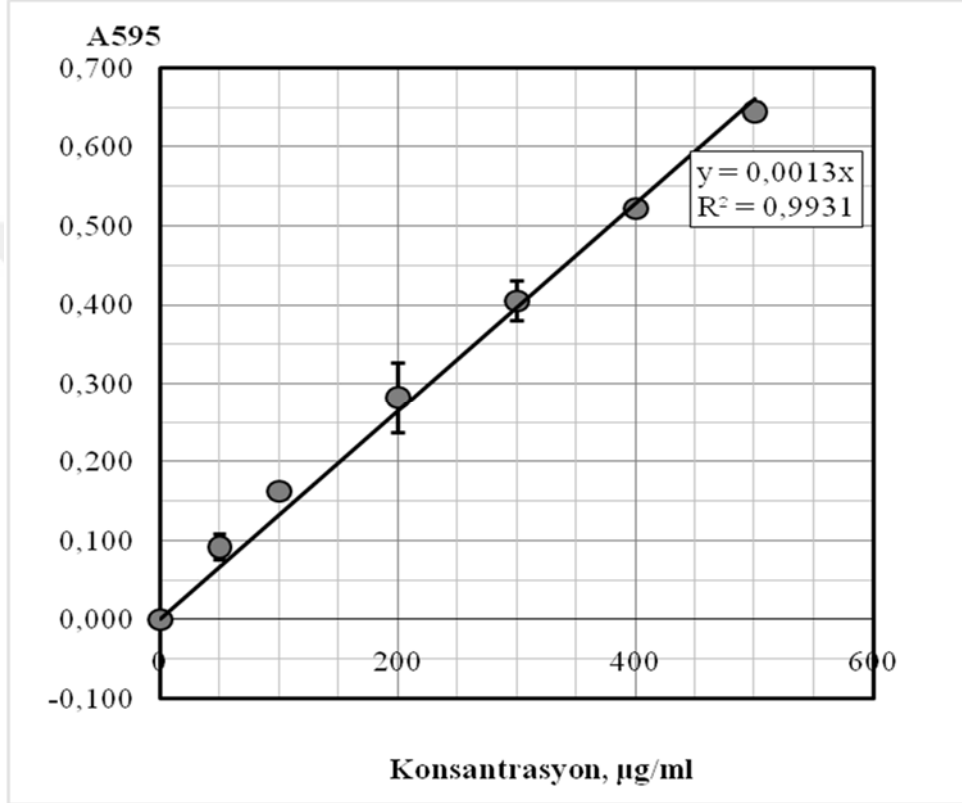
Şekil 4.9 Ligasyondan 1 hafta sonrasına ait (Grup1) örnek kesitler. A, Ai, Aii, Bi- Ligasyon yapılan alanda gingival epitelin yerine granulasyon dokusu, sutur materyali (siyah ok), periodontal cep oluşumu, inflamasyon (beyaz ok) izlenmektedir. Bii-Ligasyon yapılmayan alanda iki diş arasında gingiva epiteli, altındaki bağ dokusunda periodontal ligament izlenmektedir. AB: Alveolar kemik CEJ: Cement-mine bileşkesi (Hematoksilen-eosin A, B:X 40, Ai, Aii, Bi, Bii: X100).



Şekil 4.10 Ligasyondan 2 hafta sonrasına ait (Grup 2) örnek kesit. Ai- İki komşu diş arası, B- Diş ve altındaki alveolar kemik ilişkisi Aii- Aiv- Dişin altındaki alanların büyük büyütmesi. Ligasyon yapılan alanda nekrotik doku (beyaz ok), belirgin inflamasyon (yıldız), osteoklast hücreleri (siyah ok) ile yer yer kemikte rezorbsiyon izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin, A:X 40, Ai, Aii, Aiii, B: X100, Aiv: X200).

4.4 TOTAL PROTEİN MİKTARININ BELİRLENMESİ

Lizis tamponu (50 mM Tris-Cl (pH: 7,5), 250 mM NaCl, 3 mM EDTA, 1% Triton x-100, 0,5% Igepal, 10% gliserol, 1 mM fenilmetilsülfonil florür (PMSF), 0,1 mM Na₃VO₄, 10 mM NaF) ile homojenize edilen doku örneklerindeki ve serumlardaki protein miktarları, BCA ve Bradford yöntemleri temeline dayalı ticari kitler kullanılarak yapıldı (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 Protein miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafiğe bir örnek.

4.5 ELİSA ÇALIŞMALARI

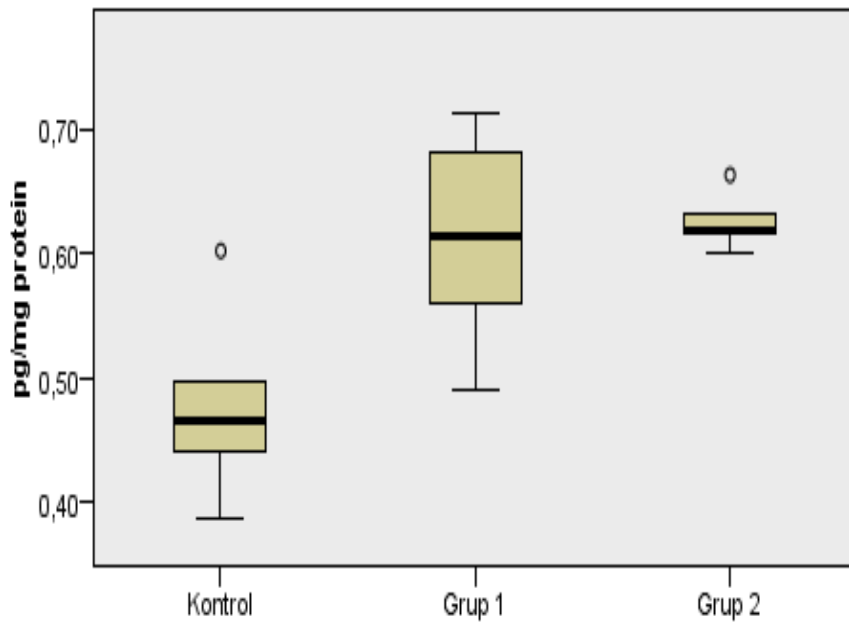
Ratlardan elde edilen doku örnekleri ve serumların sitokin miktarlarının belirlenmesinde, ticari olarak satılan ELISA kitleri kullanıldı.



Şekil 4.12 Elisa yöntemi örneği.

4.5.1 IL1beta ELISA sonuçları

Kalp dokularında yapılan analizler sonucunda, üç çalışma grubunun ELISA sonuçları anlamlı olarak ($p<0.05$) farklı bulundu (Şekil 4.13).



Şekil 4.13 Kalp dokularına ait IL1beta Elisa sonuçları ($p=0,019$).

Üç grubun karşılaştırıldığı analizlerde Kruskal Wallis testi kullanılmış; Kruskal-Wallis testi sonucunda anlamlı çıkan farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Mann-Whitney U testi yapılmıştır.

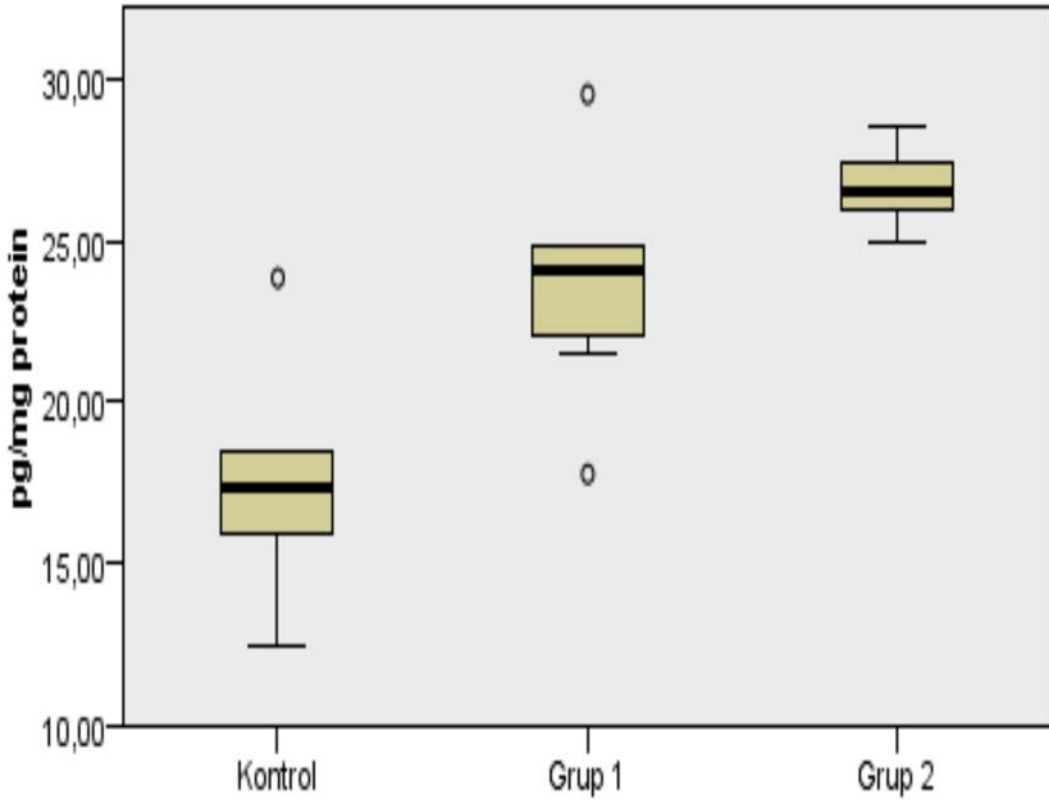
Kontrol ve Grup 1 arasındaki fark anlamlı ($p=0,019$),

Kontrol ve Grup 2 arasındaki fark anlamlı ($p=0,011$)

Grup 1 ve Grup 2 arası fark anlamsız ($p=0,886$) bulundu.

4.5.2 IL6 ELISA sonuçları

Kalp dokularında yapılan analizler sonucunda, üç çalışma grubunun ELISA sonuçları anlamlı olarak ($p<0.05$) farklı bulundu (Şekil 4.14).



Şekil 4.14 Kalp dokularına ait IL6 ELISA sonuçları ($p=0,004$).

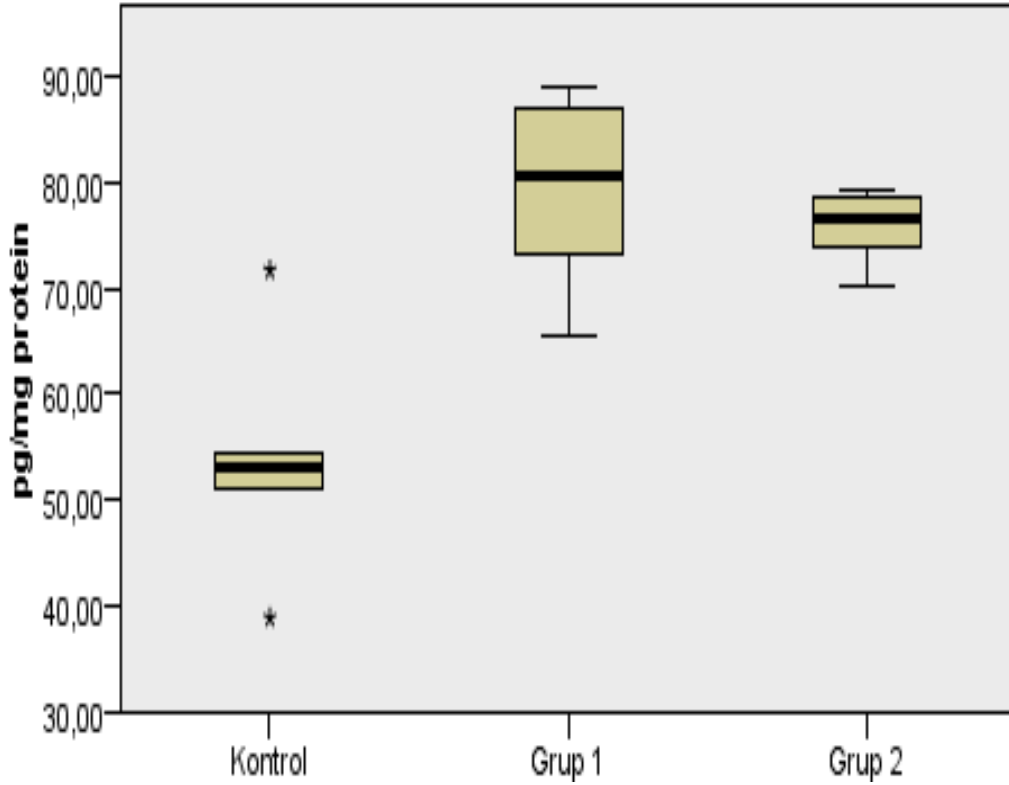
Kontrol ve Grup 1 arasındaki fark anlamlı ($p=0,028$).

Kontrol ve Grup 2 arası fark anlamlı ($p=0,006$)

Grup 1 ve Grup 2 arası fark anlamlı ($p=0,032$) bulundu.

4.5.3 IL10 ELISA sonuçları

Kalp dokularında yapılan analizler sonucunda, üç çalışma grubunun ELISA sonuçları anlamlı olarak ($p<0.05$) farklı bulundu (Şekil 4.15).



Şekil 4.15 Kalp dokularına ait IL10 ELISA sonuçları ($p=0,012$).

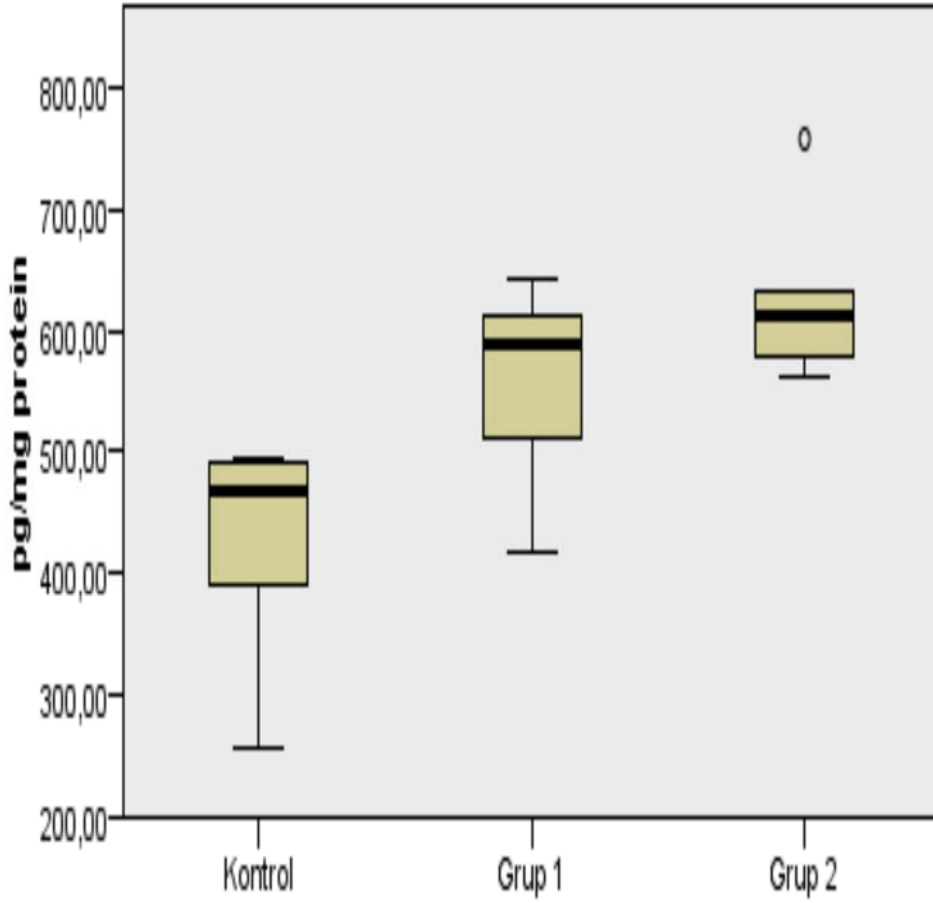
Kontrol ve Grup 1 arasındaki fark anlamlı ($p=0,010$)

Kontrol ve Grup 2 arasındaki fark anlamlı ($p=0,011$)

Grup 1 ve Grup 2 arasındaki fark anlamsız ($p=0,391$) bulundu.

4.5.4 MMP-8 ELISA sonuçları

Kalp dokularında yapılan analizler sonucunda, üç çalışma grubunun ELISA sonuçları anlamlı olarak farklı ($p<0.05$) bulundu (Şekil 4.16).



Şekil 4.16 Kalp dokularına ait MMP-8 ELISA sonuçları (p=0,022)

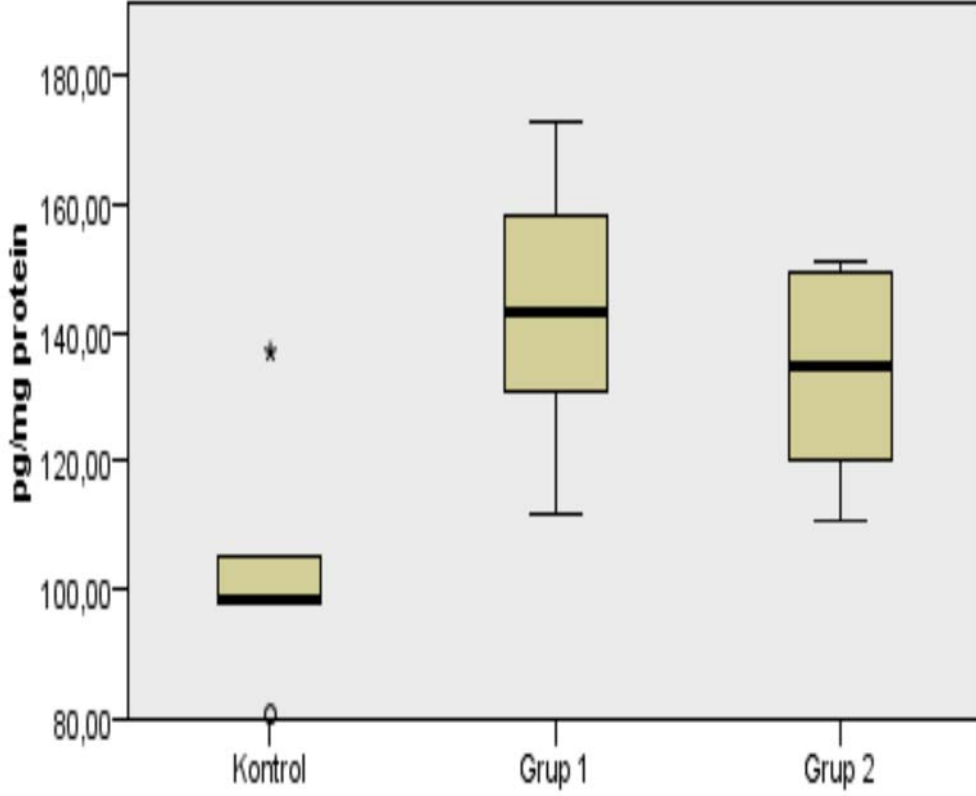
Kontrol ve Grup 1 arasındaki fark anlamsız (p=0,062)

Kontrol ve Grup 2 arası fark anlamlı (p=0,006)

Grup 1 ve Grup 2 arası fark anlamsız (p=0,391) bulundu.

4.5.5 TGF- β ELISA sonuçları

Kalp dokularında yapılan analizler sonucunda, üç çalışma grubunun ELISA sonuçları anlamlı olarak farklı (p<0.05) bulundu (Şekil 4.17).



Şekil 4.17 Kalpdokularına ait TGF- β ELISA sonuçları (p=0,021).

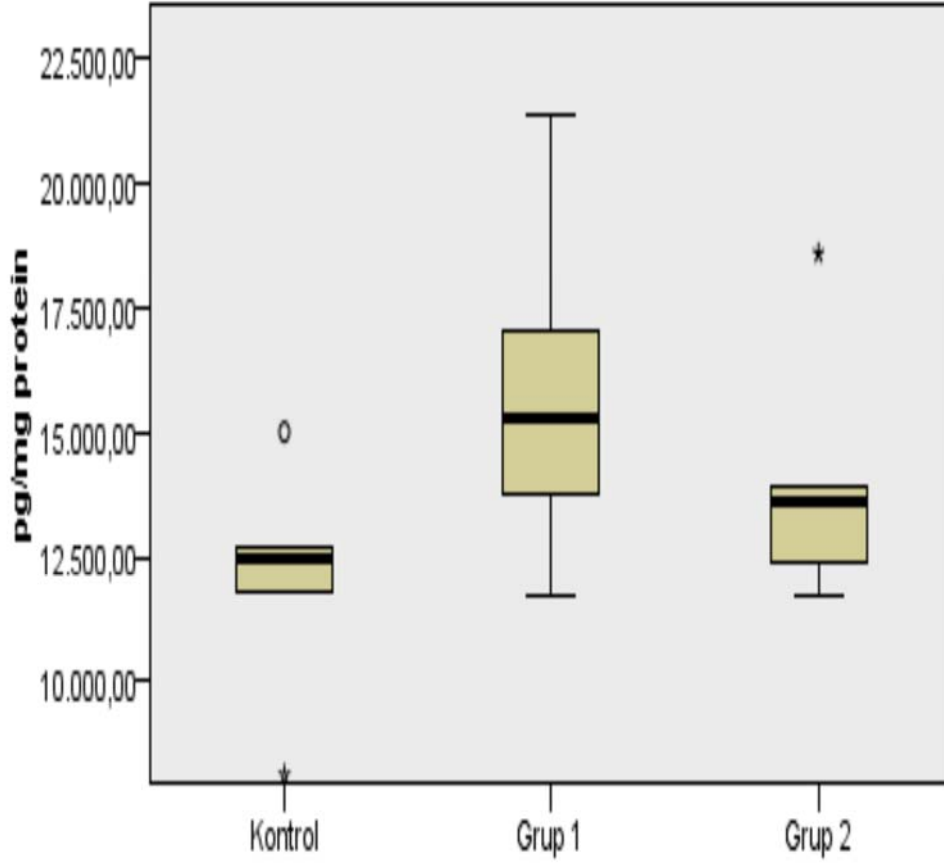
Kontrol ve Grup 1 arasındaki fark anlamlı (p=0,012)

Kontrol ve Grup 2 arasındaki fark anlamlı (p=0,028)

Grup 1 ve Grup 2 arasındaki fark anlamsız (p=0,475) bulundu.

4.5.6 TNF- α ELISA sonuçları

Kalp dokularında yapılan analizler sonucunda, üç çalışma grubunun ELISA sonuçları arasında anlamlı bir fark olmadığı (p>0.05) bulundu (Şekil 4.18).



Şekil 4.18 Kalp dokularına ait TNF- α ELISA sonuçları (p=0,161).



BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Enfeksiyonların, kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörü olarak değerlendirilmesi 100 yıl öncesinden araştırılan bir konudur [95]. Bu görüşü destekler nitelikte Fabricant ve ark. 1970'lerde yaptıkları bir çalışmada Marek hastalık virüsünün (herpes virüsü) deney hayvanlarında ateroskleroza neden olabileceğini göstermişlerdir [96]. KVH' lara neden olan başlıca enfeksiyonlar hem viral hem de bakteri kökenli akut ve kronik enfeksiyonlardır (örneğin, grip, herpes virüsleri, üst solunum yolu enfeksiyonları, *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae*, diş enfeksiyonları [çürük ve periodontitis]). Bununla birlikte, bazı kafa karıştırıcı faktörler ve metodolojik zorluklar, enfeksiyonlarla KVH arasındaki ilişkinin gerçek mekanizmasının açıklanmasını zorlaştırmaktadır. Buna karşın enfeksiyonların kardiyovasküler hastalıklara neden olmadığını gösteren çalışmalarda bulunmaktadır [97-101]. Yaptığımız bu çalışmada periodontitisin kalp dokusu üzerindeki etkisine bakılmış ve inflamatuvar özellikteki stokinler üzerinden bu ilişki açıklanmaya çalışılmıştır.

İnsanlarda diş eti enfeksiyonlarının KVH' larla olan ilişkisini açıklamak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır [102, 103]. Bu çalışmalar ilk olarak vaka kontrol çalışmaları şeklinde olup risk faktörleri ile hastalık arasındaki ilişkiyi açıklamada içerdikleri kafa karışıklığına neden olacak parametreler nedeniyle yeterli olmamıştır. Daha sonrasında bu konuyla ilgili birçok kohort çalışması da yapılmıştır. Tüm bu veriler Scannapieco ve arkadaşları tarafından analiz edilmiş KVH ile periodontitis arasında düşük düzeyde bir ilişkinin olduğu ifade edilmiştir. Yapılan popülasyon çalışmalarında bu farkların oluşmasındaki en önemli neden periodontitisin tanımlanmasında ve ölçümünde standart bulunmamasındandır. Bu durum verilerin yorumlanmasında zorluklara neden olmaktadır. Ayrıca periodontitis ve KVH' lar arasındaki ilişki oldukça karışık olup başta yaş olmak üzere birçok faktöre bağlıdır [104]. Bu yüzden bu çalışmalarda kuvvetli ilişki bulunabileceği gibi zayıf ya da hiçbir ilişkinin olmadığı çalışmalarda bulmak mümkündür.

Periodontitis ve KVH arasındaki ilişkinin tesbiti, insanlardan numune almadaki ve erken dönemde ölçülmesindeki zorluklar nedeni ile deney hayvanlarının kullanımını gerektirmiştir.

Periodontitisin ateroskleroz gelişimine etkisi hayvan modellerinde de incelenmiş ve tekrarlayan dozlarda intravenöz *Porphyromona gingivalis* uygulamasının, apoE-noksan farelerin proksimal aortlarında aterosklerozun ilerlemesini arttırdığı bulunmuştur [105]. *P. gingivalis*'in oral ve anal uygulamasının apoE-null farelerde erken aterosklerotik lezyonlara neden olduğu bulunmuştur [106, 107]. Yeni Zelanda beyaz tavşanların aortunda *P. gingivalis*, periodontitisin şiddeti ile bağlantılı lipid birikimi tespit edilmiştir [108]. Bunu destekler şekilde insanlarda aterosklerotik lezyonlarda *P. gingivalis* DNA'sı ve patojenleri tespit edilmiştir [109, 110]. Herpes virüsleri ve *C. pneumoniae*, farelerde aterosklerotik değişikliklere neden olur ve etkileri, hiperkolesterolemi varlığında şiddeti de artırmaktadır. İnsan aterosklerotik lezyonlarında çeşitli herpes virüsleri ve *C. pneumoniae* de bulunmuştur [111]. Tüm bu verilere karşın hayvan çalışmalarının sonuçları, dikkatli bir şekilde yorumlanmalıdır, çünkü deney hayvanlarındaki bulgular doğrudan insanlara aktarılamaz. Ayrıca, insan aterosklerotik lezyonlarında çeşitli mikropların varlığı mutlaka lezyonlara neden olduklarını kanıtlamaz. Bununla birlikte, aterosklerozun patogeneğinde erken evresi olan endotel disfonksiyonunun, periodontitisli bireylerde [112] ve *Salmonella typhi* aşılmasından sonra sağlıklı bireylerde [113] ortaya çıktığı da gösterilmiştir. Tüm bu veriler periodontitis etkeninin kardiyovasküler hastalıklara neden olacağını göstermekle birlikte enfeksiyonlarda immün yanıtta hastalık gelişiminde de önemli bir parametredir.

Sitokinler, immün yanıtın değerlendirilmesinde kullanılacak en önemli belirteçlerdir. Ancak insanlarda serum düzeyinde numune almak mümkündür. Bu amaçla bu çalışmada rat kalp dokusunda inflamatuvar sitokinlerin düzeyleri ölçülmüş ve olası periodontitise bağlı olası KVH ilişkisi açıklamaya çalışılmıştır. Yapılan kesitsel çalışmalarla periodontitis seviyesi; total ve LDL kolesterol veya trigliserit seviyeleri ve düşük HDL kolesterol seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir [114-119]. Güncel çalışmalar periodontal tedavinin lipoprotein metabolizması üzerinde etkili olduğu ve periodontal tedavi ile lipoprotein metabolizmasındaki bozuklukların düzeltilebildiğini göstermiştir [120]. Ayrıca periodontitis ile serum sitokin seviyesi ve makrofajlarca ortamdaki uzaklaştırılan LDL kolesterol esterlerinin metabolizması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [120].

LDL makrofaj kaynaklı köpük hücrelerce fagosite edilir. Ancak bu köpük hücrelerinin apoptozisi sonucu aterosklerotik plak gelişi olmaktadır [121].

Periodontal tedavi ile serum HDL seviyesi artmaktadır [119].

Periodontal tedavi ile HDL/LDL oranının önemli oranda arttığı ve LDL parçacık büyüklüğünün değiştiği bulunmuştur [119]. Tüm bu veriler kardiyovasküler hastalıklarla periodontitis ilişkisini ortaya koymaktadır. Yaptığımız çalışmada da kalp dokusunda IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β ve MMP-8 düzeyleri Elisa yöntemiyle incelendi.

Yapılan çalışmalar HDL ve LDL düzeyinin IL-1 β , IL-6, IL-10, TGF- β ve MMP-8 düzeyini etkilediğini göstermiş ve hastalık patolojisine bağlı olarak bu sitokinlerin düzeyinde artışa neden olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. [122-128]. Ayrıca ateroskleroz ile MMP-8 ilişkisinde gösterilmiştir [129, 130]. MMP-8, HDL ve LDL ilişkisinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [129, 131, 132]. Yaptığımız çalışmalarda kronik periodontitis modelinde kalp dokusundan elde edilen sonuçlar yapılan çalışmalarla benzer bulunmuştur (IL-1 β için şekil 4.13 p=0.019 ve p<0.05, IL-6 için şekil 4.14 p=0.004 ve p<0.05, IL-10 için şekil 4.15 p=0.012 ve p<0.05, MMP-8 için şekil 4.16 p=0.022 ve p<0.05, TGF- β için şekil 4.17 p=0.021 ve p<0.05, TNF- α için şekil 4.18 p=0.161 ve p>0.05). MMP-8 hem periodontitis hem de kardiyovasküler hastalıklarda önemli bir biyo göstergedir ve aterosklerotik plak gelişiminde plağın yapısını bozmada görev alır [133].

Ancak yaptığımız çalışmada TNF- α ile yapılan çalışmalarda kronik periodontitis ile TNF- α arasında ilişki bulunamamıştır. Buna karşın birçok çalışma TNF- α 'nın kardiyovasküler hastalıklarda potansiyel bir biyo gösterge olduğu yönündedir [134-137]. Yaptığımız çalışmada TNF- α ile ilgili doku düzeyinde farklı sonuç bulmamızın en önemli nedeni TNF- α nın yarı ömrünün çok az olmasıdır. Folch ve arkadaşları, total TNF- α miktarının serbest ve reseptöre bağlı olarak ayrı ayrı ölçülmesinin daha doğru olacağını bildirmiştir [30]. Ayrıca çalışmamızda 4 haftalık periodontitis grubunun olmamasıda gruplar arası farkın ortaya çıkmamasına neden olmuş olabilir.



BÖLÜM 6

SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız bu çalışmada periodontitis hastalığı ile kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişkinin araştırılması ve kardiyovasküler hastalıkların mekanizması ve hastalık gelişiminin takibine yönelik biyo gösterge bulunması amaçlanmıştır ve:

1. Kalp dokusunda IL-1 β ,IL-6, IL-10, TGF- β ve MMP-8 düzeylerinin periodontitisli hastalarda anlamlı olarak yükseldiği bulunmuştur ve kalp dokusunda bu sitokinlerin biyo gösterge olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.
2. Çalışmada hasta grubu olarak 1 ve 2 haftalık periodontitisli hastalar kullanılmıştır ancak kronik periodontitisin gelişim mekanizmalarının tam olarak açıklanması ve TNF- α gibi sitokinlerin mekanizmasının açıklanması açısından 4 haftalık bir hasta grubu ile de çalışılması önerilmektedir.
3. Kalp dokusunda önemli sitokinlerin düzeylerindeki değişiklikler gösterilmiş ancak kardiyovasküler hasarın immünohistolojik olarak değerlendirilmesi, periodontitise bağlı olası kardiyovasküler hasarı göstereceğinden ileriki çalışmalarda yapılması önerilmektedir.



KAYNAKLAR

- [1] **Petersen P E** (2003) *The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century--the approach of the WHO Global Oral Health Programme. Community Dent Oral Epidemiol*, 31 Suppl 1: 3-23.
- [2] **Mitsis FJ** (1991) Hippocrates in the golden age: his life, his work and his contributions to dentistry. *The Journal of the American College of Dentists* 58(1): 26-30
- [3] **URL1** *World Health Organization* %J World Health Organization, G. Switzerland. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/en>, Oral health fact sheet no. 318. 2012.
- [4] **Theilade E, Wright W H and Jensen S B** (1996) Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *Journal of periodontal research* 1: 1-13.
- [5] **Darveau RP** (2010) Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Reviews Microbiology* 8(7): 481.
- [6] **Petersen P E and Ogawa H** (2012) The global burden of periodontal disease: towards integration with chronic disease prevention and control. *Periodontology* 60(1): 15-39.
- [7] **Rosier B T, Marsh P D and Mira A** (2018) Resilience of the oral microbiota in health: mechanisms that prevent dysbiosis. *Journal of dental research* 97(4): 371-380.
- [8] **Baelum V and López R** (2013) Periodontal disease epidemiology—learned and unlearned? *Periodontology 2000*, 62(1): 37-58.
- [9] **Lamont RJ and Hajishengallis G** (2015) Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease. *Trends in molecular medicine* 21(3): 172-183.
- [10] **Blaizot A and Vergnes J N** (2009) Periodontal diseases and cardiovascular events: meta-analysis of observational studies. *International dental journal* 59(4): 197-209.
- [11] **López R, Oyarzún M and Naranjo C** (2002) Coronary heart disease and periodontitis -- a case control study in Chilean adults. *Journal of clinical periodontology* 29(5): 468-473.
- [12] **Chee B, Park B and Bartold P M** (2013) Periodontitis and type II diabetes: a two-way relationship. *Journal of Evidence- Based Healthcare* 11(4): 317-329.
- [13] **Bartold P M and Marshall R I** (2005) Periodontitis and rheumatoid arthritis: a review. *Journal of periodontology* 76: 2066-2074.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [14] **Choi J I and Seymour G J** (2010) Vaccines against periodontitis: a forward-looking review. *Journal of periodontology & implant science* 40(4): 153-163.
- [15] **Silva N, Abusleme L, Bravo D and Dutzan N** (2015) Host response mechanisms in periodontal diseases. *Journal of Applied Oral Science* 23(3): 329-355.
- [16] **Mäntylä P, Stenman M and Kinane D F** (2003) Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *Journal of periodontal research* 38(4): 436-439.
- [17] **Noh M K, Jung M, Kim S H and Lee S R** (2013) Assessment of IL-6, IL-8 and TNF-alpha levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Experimental and therapeutic medicine* 6(3): 847-851.
- [18] **Socransky S S, Haffajee A D and Smith C** (1991) Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *Journal of clinical periodontology* 18(10): 766-775.
- [19] **Armitage G C** (1999) Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of periodontology* 4(1): 1-6.
- [20] **Ciancio S G** (1986) Current status of indices of gingivitis. *Journal of clinical periodontology* 13(5): 375-378.
- [21] **Lindhe J, Ranney R, Lamster I and Charles A** (1999) Consensus Report: Chronic Periodontitis. *Annals of Periodontology* 4: 38-38.
- [22] **Albandar J M and Tinoco E M B** (2002) Global epidemiology of periodontal diseases in children and young persons. *Periodontology 2000, 20002* 29: 153-76.
- [23] **Albandar J M and Kingman A** (1999) Gingival recession, gingival bleeding, and dental calculus in adults 30 years of age and older in the United States. *Journal of periodontology* 70(1): 30-43.
- [24] **Albandar J M, Kingman A and Brunelle J A** (1999) Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States. *Journal of periodontology* 70(1): 13-29.
- [25] **Heitz-Mayfield L J A** (2005) Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis. *Journal of clinical periodontology* 32: 196-209.
- [26] **Lopez R, Hujoel P and Belibasakis G N** (2015) On putative periodontal pathogens: an epidemiological perspective *Virulence* 6(3): 249-257.
- [27] **Bowen W H, Burne R A, Wu H and Koo H** (2018) Oral biofilms: pathogens, matrix, and polymicrobial interactions in microenvironments. *Trends in microbiology* 26(3): 229-242.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [28] **Tan L, Tang X, Pan C and Wang H** (2019) Relationship among clinical periodontal, microbiologic parameters and lung function in participants with chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of periodontology* 90(2): 134-140.
- [29] **Marsh P D, Martin M V, Lewis M A O and Williams D** (2009) *Oral Microbiology E-Book*. Elsevier health sciences.
- [30] **Bartold P M and Van Dyke T E** (2013) Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontology 2000, 2013* 62(1): 203-217.
- [31] **Shi B, Chang M, Martin J, Mitreva M and Lux R** (2015) Dynamic changes in the subgingival microbiome and their potential for diagnosis and prognosis of periodontitis. *MBio* 6(1): e01926-14.
- [32] **Mendes R T, Nguyen D and Stephens D** (2018) Hypoxia-induced endothelial cell responses—possible roles during periodontal disease. *Clinical and experimental dental research* 4(6): 241-248.
- [33] **Kim J and Amar S** (2006) Periodontal disease and systemic conditions: a bidirectional relationship. *Odontology* 94(1): 10-21.
- [34] **Slots J** (2017) Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontology* 75(1): 7-23.
- [35] **Schenkein H A** (2006) Host responses in maintaining periodontal health and determining periodontal disease. *Periodontology* 40:77-93.
- [36] **Genco R J and Borgnakke W S** (2013) Risk factors for periodontal disease. *Periodontology 2000, 2013*, 62(1): 59-94.
- [37] **Cholewa M, Madziarska K** (2018) The association between periodontal conditions, inflammation, nutritional status and calcium-phosphate metabolism disorders in hemodialysis patients. *Journal of Applied Oral Science* 26
- [38] **Rudney J D, Jagtap P D and Reilly C S** (2015) Protein relative abundance patterns associated with sucrose-induced dysbiosis are conserved across taxonomically diverse oral microcosm biofilm models of dental caries. *Microbiome* 3(1): 69.
- [39] **Berglundh T, Gislason Ö and Lekholm U** (2004) Histopathological observations of human periimplantitis lesions. *Journal of clinical periodontology* 31(5): 341-347.
- [40] **Larjava H, Koivisto L and Häkkinen L** (2011) Epithelial integrins with special reference to oral epithelia. *Journal of dental research* 90(12): 1367-76.
- [41] **Hajishengallis G, Sahingur S E** (2014) Novel inflammatory pathways in periodontitis. *Advances in dental research* 26(1): 23-29.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [42] **Graves D T and Cochran D** (2003) The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of periodontology* 74(3): 391-401.
- [43] **Kinane D F, Stathopoulou P G and Papapanou P N** (2017) Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1): 17038.
- [44] **Preshaw P M, Seymour R A and Heasman P A** (2004) Current concepts in periodontal pathogenesis. *Dental update* 31(10): 570-578.
- [45] **Nociti F H J, Stefani C M, Machado M A and Sallum E A** (2000) Histometric evaluation of bone regeneration around immediate implants partially in contact with bone: a pilot study in dogs. *Implant dentistry* (4):321-328.
- [46] **Wendell K J and Stein S H** (2001) Regulation of cytokine production in human gingival fibroblasts following treatment with nicotine and lipopolysaccharide. *Journal of periodontology* 72(8):1038-1044.
- [47] **Rosier B T, Marsh P D and Mira A** (2018) Resilience of the oral microbiota in health: mechanisms that prevent dysbiosis. *Journal of dental research* 97(4): 371-380.
- [48] **Jura J, Skalniak L and Koj A** (2012) Monocyte chemoattractant protein-1-induced protein-1 (MCPIP1) is a novel multifunctional modulator of inflammatory reactions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1823(10): 1905-1913.
- [49] **Nagao Y and Tanigawa T** (2019) Red complex periodontal pathogens are risk factors for liver cirrhosis. *Biomedical Reports* 11(5): 199-206.
- [50] **Chaffee B W and Weston S J** (2010) Association between chronic periodontal disease and obesity: a systematic review and meta-analysis. *Journal of periodontology* 81(12):. 1708-1724.
- [51] **Nishimura F, Iwamoto Y and Mineshiba J** (2003) Periodontal disease and diabetes mellitus: The role of tumor necrosis factor- α in a 2-way relationship. *Journal of periodontology*74(1): 97-102.
- [52] **Aiuto F D, Gkraniias N, Bhowruth D and Khan T** (2018) Systemic effects of periodontitis treatment in patients with type 2 diabetes: a 12 month, single-centre, investigator-masked, randomised trial. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 6(12):. 954-965.
- [53] **Kaur M, Geisinger M L and Geurs N C** (2014) Effect of intensive oral hygiene regimen during pregnancy on periodontal health, cytokine levels, and pregnancy outcomes: a pilot study. *Journal of periodontology* 85(12): 1684-92.
- [54] **Corbella S, Veronesi P, Galimberti V and Weinstein R** (2018) Is periodontitis a risk indicator for cancer? A meta-analysis. *PLoS One*, 13(4): e0195683.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [55] **Gao S, Li S, Ma Z and Liang S** (2016) Presence of Porphyromonas gingivalis in esophagus and its association with the clinicopathological characteristics and survival in patients with esophageal cancer. *Infectious agent and cancer* 11(1): 3.
- [56] **Inaba H, Sugita H, Kuboniwa M and Iwai S** (2014) Porphyromonas gingivalis promotes invasion of oral squamous cell carcinoma through induction of pro MMP 9 and its activation. *Cellular mikrobiology* 16(1): 131-145.
- [57] **Kurgan S ve Kantarci A** (2018) Molecular basis for immunohistochemical and inflammatory changes during progression of gingivitis to periodontitis. *Periodontology* 76(1):51-67.
- [58] **Bahekar A A, Singh S, Saha S, Molnar J and Arora R** (2007) The prevalence and incidence of coronary heart disease is significantly increased in periodontitis: a meta-analysis. *American heart journal* 154(5): 830-837.
- [59] **Ruospo M, Palmer S C, Wong G, Craig J C and Petruzzi M** (2017) Periodontitis and early mortality among adults treated with hemodialysis: a multinational propensity-matched cohort study. *BMC nephrology* 18(1): 166.
- [60] **Ashigaki N, Suzuki J, Aoyama N and Ogawa M** (2013) The periodontal pathogen Aggregatibacter actinomycetemcomitans affects experimental autoimmune myocarditis in mice. *International heart Journal* 54(6): 412-416.
- [61] **Araujo-Pires A C, Francisconi C F and Bigueti C C** (2014) Simultaneous analysis of T helper subsets (Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh, Tr1 and Tregs) markers expression in periapical lesions reveals multiple cytokine clusters accountable for lesions activity and inactivity status. *Journal of Applied oral science* 22(4): 336-346.
- [62] **Takashiba S and Naruishi K** (2003) Perspective of cytokine regulation for periodontal treatment: fibroblast biology. *Journal of periodontology* 74(1): 103-110.
- [63] **Taylor J J** (2010) Cytokine regulation of immune responses to Porphyromonas gingivalis. *Periodontology* 54(1): 160-194.
- [64] **Fisman E Z, Tenenbaum A J and Motro M** (2003) Cardiovascular diabetology in the core of a novel interleukins classification: the bad, the good and the aloof. *Cardiovascular diabetology* 2(1): 11.
- [65] **Giannopoulou C, Mombelli A J and Kamma J J** (2003) Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *Journal of clinical periodontology* 30(2): 145-153.
- [66] **Benakanakere M and Kinane D F** (2012) Innate cellular responses to the periodontal biofilm, in Periodontal Disease. Karger Publishers. *Periodontal Disease karger publishers* 41-55

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [67] **Bartold P M and Narayanan A S** (2006) Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontology 2000, 2006* 40(1):29-49.
- [68] **Mężyk-Kopeć R, Bzowska M and Potempa J** (2005) Inactivation of membrane tumor necrosis factor alpha by gingipains from *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and immunity* 73(3): 1506-1514.
- [69] **Braham P, Herron C and Street C** (2009) Antimicrobial photodynamic therapy may promote periodontal healing through multiple mechanisms. *Journal of periodontology* 80(11): 1790-1798
- [70] **Otenio C C, Fonseca I, Martins M F and Ribeiro L C** (2012) Expression of IL-1 β , IL-6, TNF- α , and iNOS in pregnant women with periodontal disease. *Genet Mol Res* 11(4): 4468-78.
- [71] **Garlet G P** (2010) Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: are-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *Journal of dental research* 89(12): 1349-1363
- [72] **Thunell D H, Tymkiw K D and Johnson G K** (2010) A multiplex immunoassay demonstrates reductions in gingival crevicular fluid cytokines following initial periodontal therapy. *Journal of periodontal research* 45(1): 148-152.
- [73] **Barksby H E, Lea S R and Preshaw P M** (2007) The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. *Clinical & Experimental Immunology* 149(2): 217-225.
- [74] **Delaleu N and Bickel M** (2002) Inflammation and tissue loss caused by periodontal pathogens is reduced by interleukin-1 antagonists *The journal of infectious diseases* 186(4): 511-516.
- [75] **Delima A J, Karatzas S and Amar S** (2002) Inflammation and tissue loss caused by periodontal pathogens is reduced by interleukin-1 antagonists. *The journal of infectious diseases* 186(4): 511-516.
- [76] **Sexton W M, Lin Y and Kryscio R J** (2011) Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. *Journal of clinical periodontology* 38(5): 434-441.
- [77] **Preshaw P M and Taylor J J** (2011) How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *Journal of clinical periodontology* 38: 60-84.
- [78] **Toker H, Poyraz O ve Eren K** (2008) Effect of periodontal treatment on IL-1 β , IL-1ra, and IL-10 levels in gingival crevicular fluid in patients with aggressive periodontitis. *Journal of clinical periodontology* 35(6) 507-513.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [79] **Javelaud D and Mauviel A** (2004) Mammalian transforming growth factor- β s: Smad signaling and physio-pathological roles. *The international journal of biochemistry& cell biology* 36(7):1161-1165.
- [80] **Ohshima M and Yamaguchi Y** (2010) TGF- β signaling in gingival fibroblast-epithelial interaction. *Journal of dental research* 89(11):1315-1321.
- [81] **Nakajima T, Ueki-Maruyama K and Oda T** (2005) Regulatory T-cells infiltrate periodontal disease tissues. *Journal of dental research* 84(7): 639-643.
- [82] **Ebersole J L, Schuster J L, Stevens J and Dawson D** (2013) Patterns of salivary analytes provide diagnostic capacity for distinguishing chronic adult periodontitis from health. *Journal of clinical immunology* 33(1):271-279.
- [83] **Loppnow H, Werdan K and Buerke M** (2008) Invited review: Vascular cells contribute to atherosclerosis by cytokine-and innate-immunity-related inflammatory mechanisms. *Innate immunity* 14(2):63-87.
- [84] **Cestari J A F, Fabri G M C, Kalil J and Nitrini R** (2016) Oral infections and cytokine levels in patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment compared with controls. *Journal of Alzheimer's Diseases* 52(4): 1479-1485.
- [85] **Winer A, Adams S and Mignatti P** (2018) Matrix Metalloproteinase Inhibitors in Cancer Therapy: Turning Past Failures Into Future Successes. *Molecular cancer therapeutics* 17(6): 1147-1155.
- [86] **Marcaccini A M, Meschiari C A, Sorgi C A** (2009) Tanus- Santos, JE, Novaes, AB and Gerlach, R. F.: Circulating interleukin- 6 and high- sensitivity C- reactive protein decrease after periodontal therapy in otherwise healthy subjects. *Journal of periodontology* 80: 594-602.
- [87] **Leppilahti J M, Ahonen M M, and Hernández M** (2011) Oral rinse MMP-8 point-of-care immuno test identifies patients with strong periodontal inflammatory burden. *Oral diseases* 17(1): 115-122.
- [88] **Sorsa T, Tjäderhane L, Kontinen Y T and Lauhio A** (2006) Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Annals of medicine* 38(5): 306-321.
- [89] **Kurgan Ş, Fentoğlu Ö ve Önder C** (2016) The effects of periodontal therapy on gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8, interleukin-6 and prostaglandin E2 levels in patients with rheumatoid arthritis. *Journal of periodontal research* 51(5): 586-95.
- [90] **Bouxsein M L, Boyd S K, Christiansen B A, Guldberg R E, Jepsen K J and Müller R** (2010) Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *Journal of bone and mineral research* 25(7): 1468-86.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [91] **Osler W** (1908) *Modern Medicine: Its Theory and Practice*, in Original Contributions by American and Foreign Authors. Lea Brothers & Company.
- [92] **Fabrican C Gt, Fabricant J and Litrenta M M** (1978) Virus-induced atherosclerosis. *Journal of Experimental Medicine* 148(1): 335-340.
- [93] **Joshi K J, Rimm E B and Douglass J W** (1996) Poor oral health and coronary heart disease. *Journal of dental research* 75(9): 1631-1636.
- [94] **Hujoel P P, Drangsholt M, Spiekerman C and DeRouen T A** (2000) Periodontal disease and coronary heart disease risk. *Jama* 84(11): 1406-1410.
- [95] **Hujoel P P, Drangsholt M and Spiekerman C** (2001) Examining the link between coronary heart disease and the elimination of chronic dental infections. *The Journal of the American Dental Association* 132(7): 883-889.
- [96] **Hujoel P P and Drangsholt M** (2002) Pre-existing cardiovascular disease and periodontitis: a follow-up study. *Journal of dental research* 81(3):186-191.
- [97] **Howell T H, Ridker P M and Ajani U A** (2001) Periodontal disease and risk of subsequent cardiovascular disease in US male physicians. *Journal of the American College of Cardiology* 37(2): 445-450.
- [98] **Simonka M, Skaleric U and Hojs D** (1988) Condition of teeth and periodontal tissue in patients who had suffered a heart attack. *Zobozdravstveni vestnik* 43(3-5): 81.
- [99] **Mattila K J, Nieminen M S, Valtonen V V and Rasi V P** (1989) Association between dental health and acute myocardial infarction. *Bmj* 298(6676): 779-781.
- [100] **Mattila K J, Asikainen S and Wolf J** (2000) Age, dental infections, and coronary heart disease. *Journal of dental research* 79(2):756-760.
- [101] **Li L, Messas E, Batista E L Jr, Levine R A and Amar S** (2002) Porphyromonas gingivalis infection accelerates the progression of atherosclerosis in a heterozygous apolipoprotein E-deficient murine model. *Circulation* 105(7): 861-867
- [102] **Lalla E, Lamster I B and Hofmann M A** (2003) Oral infection with a periodontal pathogen accelerates early atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology* 23(8):1405-1411.
- [103] **Gibson Iii F C, Hong C, Chou H H, Yumoto H and Chen J** (2004) Innate immune recognition of invasive bacteria accelerates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 109(22): 2801-2806.
- [104] **Jain A, Batista E L, Serhan C and Stahl G L** (2003) Role for periodontitis in the progression of lipid deposition in an animal model. *Infection and immunity* 71(10):. 6012-6018.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [105] Haraszthy V, Zambon J J and Trevisan M (2000) Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *Journal of periodontology* 71(10): 1554-1560.
- [106] Kozarov E V, Dorn B R and Shelburne C E (2005) Human atherosclerotic plaque contains viable invasive *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology* 25(3):e17-e18.
- [107] Mattila K J, Valtonen V V and Nieminen M S (1998) Role of infection as a risk factor for atherosclerosis, myocardial infarction, and stroke. *Clinical Infectious Diseases* 26(3): 719-734.
- [108] Amar S, Gokce N, Morgan S and Loukideli M (2003) Periodontal disease is associated with brachial artery endothelial dysfunction and systemic inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology* 23(7): 1245-1249.
- [109] Hingorani A D, Cross J, Kharbanda R K and Mullen M J (2000) Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans. *Circulation* 102(9): 994-999.
- [110] Buhlin K, Gustafsson A and Pockley A G (2003) Risk factors for cardiovascular disease in patients with periodontitis *European heart journal* 24(23): 2099-2107.
- [111] Cutler C W, Shinedling E A and Nunn M (1999) Association between periodontitis and hyperlipidemia: cause or effect? *Journal of periodontology* 70(12):1429-1434.
- [112] Lösche W, Karapetow F and Pohl F (2000) Plasma lipid and blood glucose levels in patients with destructive periodontal disease. *Journal of clinical periodontology* 27(8): 537-541.
- [113] Katz J, Flugelman M Y and Goldberg A (2002) Association between periodontal pockets and elevated cholesterol and low density lipoprotein cholesterol levels. *Journal of periodontology* 73(5): 494-500.
- [114] Craig R G, Yip J K, So M K and Boylan R J (2003) Relationship of destructive periodontal disease to the acute-phase response. *Journal of periodontology* 74(7): 1007-1016.
- [115] Pussinen P J, Jauhiainen M and Vilkuna-Rautiainen T (2004) Periodontitis decreases the antiatherogenic potency of high density lipoprotein. *Journal of lipid research* 45(1): 139-147.
- [116] Ball R Y, Stowers E C, Burton J H and Cary N R B (1995) Evidence that the death of macrophage foam cells contributes to the lipid core of atheroma. *Atherosclerosis* 114(1):45-54.
- [117] Marin-Palma D, Sirois C M and Urcuqui-Inchima S (2019) Inflammatory status and severity of disease in dengue patients are associated with lipoprotein alterations. *PloS one* 14(3): e0214245-e0214245.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [118] **DiNicolantonio J J and McCarty M F** (2018) Is interleukin-6 the link between low LDL cholesterol and increased non-cardiovascular mortality in the elderly? 5(1):. e000789.
- [119] **Lubrano V, Gabriele M and Puntoni M R** (2015) Relationship among IL-6, LDL cholesterol and lipid peroxidation. *Cellular and Molecular Biology Letters* 20(2): 310-322.
- [120] **Michael D R, Salter R C and Ramji D P** (2012) TGF-beta inhibits the uptake of modified low density lipoprotein by human macrophages through a Smad-dependent pathway: a dominant role for Smad-2. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 1822(10): 1608-1616.
- [121] **Chen H, Li D, Saldeen T and Mehta J L** (2001) Transforming Growth Factor- β 1 Modulates Oxidatively Modified LDL-Induced Expression of Adhesion Molecules: Role of LOX-1. *Circulation research* 89(12):1155-1160.
- [122] **Paim L R, Schreiber R, Matos-Souza J R and Silva A A** (2013) Oxidized low-density lipoprotein, matrix-metalloproteinase-8 and carotid atherosclerosis in spinal cord injured subjects. *Atherosclerosis*, 231(2): 341-5.
- [123] **Belo V A, Souza-Costa D C, Lana C M and Caputo F L D** (2009) Assessment of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-8, MMP-9, and their inhibitors, the tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMP)-1 and TIMP-2 in obese children and adolescents. *Clinical biochemistry* 42(10-11): 984-990.
- [124] **Salminen A, Åström P, Metso J, Soliymani R and Salo T** (2015) Matrix metalloproteinase 8 degrades apolipoprotein A-I and reduces its cholesterol efflux capacity. *The FASEB Journal* 29(4): 1435-1445.
- [125] **Pradhan-Palikhe P and Vikatmaa P** (2010) Elevated MMP-8 and Decreased Myeloperoxidase Concentrations Associate Significantly with the Risk for Peripheral Atherosclerosis Disease and Abdominal Aortic Aneurysm 1. *Scandinavian journal of immunology* 72(2): 150-157.
- [126] **Laxton R C, Hu Y, Duchene J and Zhang F** (2009) A role of matrix metalloproteinase-8 in atherosclerosis. *Circulation research* 105(9): 921-929.
- [127] **Ueland T, Gullestad L, Nymo S H and Yndestad A** (2015) Inflammatory cytokines as biomarkers in heart failure. *Clinica Chimica Acta* 443: 71-77.
- [128] **Birks E J, Latif N and Owen V** (2001) Thoracic Transplantation and Ventricular Assist Devices-Quantitative Myocardial Cytokine Expression and Activation of the Apoptotic Pathway in Patients Who Require Left Ventricular Assist Devices. *Circulation- Hagerstown* 104(12): 1233.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [129] **Chung E S, Packer M, Lo K H and Fasanmade A A** (2003) Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor- α , in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation* 107(25): 3133-3140.
- [130] **Mann D L, McMurray J J V, Packer M and Swedberg K** (2004) Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL). *Circulation* 109(13):1594-1602.





ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Zonguldak' da doğdum. İlköğrenimimi Zonguldak Rat Cumhuriyet okulunda, Ortaöğrenim ve lise öğrenimimi Zonguldak Atatürk Anadolu Lisesinde tamamladım. 2011 yılında Balıkesir Üniversitesi Biyoloji Bölümünü kazandım. 2015 yılında mezun olduktan sonra 2017 yılında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde yüksek lisans eğitimime başladım.

İLETİŞİM BİLGİLERİ:

E-posta: ozgeipek35@gmail.com