

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



**PERİODONTİTİSLİ BİREYLERDE GHRELİN
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

Gülin YILMAZ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi
Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından
1774-D-09 Proje numarası ile desteklenmiştir.
Tez No: 62**

2011-İSPARTA

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Periodontoloji Anabilim Dalı Doktora Programı** çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 11 / 07 / 2011

Tez Danışmanı: Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU
Süleyman Demirel Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN
Süleyman Demirel Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Gülden EREŞ
Ankara Üniversitesi



Üye : Yrd. Doç. Dr. Mine ÖZTÜRK TONGUÇ
Süleyman Demirel Üniversitesi



Üye : Yrd. Doç. Dr. Özlem FENTOĞLU
Süleyman Demirel Üniversitesi



ONAY :Bu Doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'na belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. M. Fehmi ÖZGÜNER
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince mesleki açıdan gelişmemde büyük desteğini gördüğüm, tezimin hazırlanması aşamasında her türlü bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen, değerli hocam Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU'na;

Tez çalışmam sırasında desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Fatih Gültekin ve Yrd. Doç. Dr. Mine Öztürk Tonguç'a;

Periodontoloji eğitimim süresince verdikleri emekler nedeniyle, kürsümüzün değerli hocaları Doç. Dr. Zuhale Yetkin Ay ve Yrd. Doç. Dr. Özlem Fentoğlu'na;

Sabır ve anlayış içinde her konuda benden yardımlarını esirgemeyen ve her zor anımda yanımda olan Dr. Dt. Pelin Özat, Yrd. Doç. Dr. Yener Özat, Dr. Dt. Yeşim Erdek ve Dr. Dt. Gizem Kılınç'a

Doktora eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum bölüm arkadaşlarım Dt. Gizem Torumtay, Dt. Burak Doğan, Dt. Fethiye Çağlar, Dr. Dt. Muhsin Özdem, Dt. Umut Yiğit, Dt. Memduha Tözüm, Dt. Buket Kılınç ve Dt. Burcu Orun'a;

Biyokimyasal analiz aşamasındaki yardımlarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Duygu Kumbul Doğuç ve Dr. Havva Koçak'a;

İstatistiksel değerlendirmelerin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Hikmet Orhan'a

Tez projeme maddi destek sağlayan Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne (Proje No: 1774-D-09),

Eğitimim süresince doktora bursu ile beni maddi açıdan destekleyen TÜBİTAK'a;

Eğitimim ve tüm yaşamım boyunca destek, ilgi ve sevgilerini hep yanımda hissettiğim; üzerimde sonsuz hak ve emekleri olan, çok sevdiğim anneme, babama ve kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Gülin YILMAZ

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1. Kemik Metabolizması	3
2.1.1. Kemığın Hücreleri	3
2.1.1.1. Osteoblastlar	3
2.1.1.2. Osteositler	4
2.1.1.3. Osteoklastlar	4
2.1.1.4. Bone Lining Hücreleri	5
2.1.2. Kemığın Yapım ve Yıkım Dengesi	5
2.1.3. Kemik Metabolizmasının Düzenleyici Mekanizmaları	8
2.1.3.1. Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör- κ B (RANK) ve Ligandı (RANKL)	8
2.1.3.2. Osteoprotegerin (OPG)	9
2.1.4. Kemik Metabolizmasına Ait Biyokimyasal Belirteçler	10
2.1.4.1. Osteokalsin (OSC)	11
2.1.4.2. Alkalen Fosfataz (ALP)	12
2.2. Periodontal Hastalık	12
2.2.1. Tanımı, Sınıflandırılması ve Epidemiyolojisi	12
2.2.2. Periodontal Hastalık Patogenezi	18
2.3. Periodontal Hastalıkta Kemik Yıkım Mekanizması	22
2.4. Periodontal Hastalıkta Sitokinlerin Rolü	27
2.4.1. Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α)	32
2.4.2. İnterlökin (IL)-1 β	33
2.5. Ghrelin Hormonu	35
2.5.1. Ghrelinin Yapısı	35
2.5.2. Açıl ve Desaçil Ghrelin	36
2.5.3. Ghrelin Reseptörü	38
2.5.4. Ghrelinin Dokularda Dağılımı	39
2.5.5. Ghrelinin Fizyolojik Fonksiyonları	41
2.5.6. Ghrelin Düzeyini Etkileyen Faktörler	45
2.5.7. Ghrelin ve İmmün Sistem	49
2.5.8. Ghrelin ve Kemik Metabolizması	53
2.6. Periodontal Hastalık ve Ghrelin Hormonu	56
3. GEREÇ VE YÖNTEM	58
3.1. Çalışma Grupları	58
3.2. Klinik Değerlendirme	59

3.2.1. Gingival İndeks (Gİ)	59
3.2.2. Plak İndeksi (Pİ)	60
3.2.3. Sondlamada Kanama Yüzdesi (SK%)	60
3.2.4. Periodontal Cep Derinliği (CD)	60
3.2.5. Klinik Ataçman Seviyesi (KAS)	61
3.3. Kan Örneklerinin Hazırlanması	61
3.4. Biyokimyasal Değerlendirme	62
3.4.1. Plazma Total ve Aktif Ghrelin Analizi	62
3.4.2. Serum IL-1 β , TNF- α , sRANKL, ALP, OSC Analizi	63
3.5. İstatistiksel Analiz	64
4. BULGULAR	66
4.1. Çalışma Gruplarının Demografik ve Klinik Özellikleri	66
4.2. Çalışma Gruplarının Periodontal Durumlarının Karşılaştırılması	68
4.3. Çalışma Gruplarının Serum ALP, OSC, IL-1 β , TNF- α ve sRANKL Düzeylerinin Karşılaştırılması	70
4.4. Çalışma Gruplarının Plazma Total ve Açıl Ghrelin Düzeylerinin Karşılaştırılması	71
4.5. Korelasyonlar	76
5. TARTIŞMA	79
6. SONUÇ	92
ÖZET	93
ABSTRACT	94
KAYNAKLAR	95
EKLER	116
EK 1. SDÜ Tıp Fakültesi Dekanlığı Etik Kurulu Kararı	
EK 2. Bilgilendirilmiş Hasta Onam Formu	
ÖZGEÇMİŞ	117

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A. actinomycetemcomitans	: Aggregatibacter actinomycetemcomitans
AAP	: Amerikan Periodontoloji Akademisi
ACTH	: Adenokortikotropik hormon
AKŞ	: Açlık kan şekeri
ALP	: Alkalen fosfataz
BH	: Büyüme hormonu
BHR	: Büyüme hormonu reseptörü
BHS	: Büyüme hormonu salgılatıcı
BHS-R	: Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör
BMU	: Basic multicelluler unit
CD	: Cep derinliği
CRP	: C-reaktif protein
DOS	: Dişeti oluğu sıvısı
ELISA	: Enzim bağlı immünosorbent assay
Gİ	: Gingival indeks
GLA	: Glutamik asit
HDL	: Yüksek densiteli lipoprotein
ICAM-1	: İnterselüler hücre adezyon molekülü-1
ICTP	: Pyridinoline cross-linked carboxy-terminal telo peptide of type I collagen
Ig	: İmmünglobülin
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL	: İnterlökin
Il-1ra	: İnterlökin 1 reseptör antagonisti
INF-γ	: İnterferon- γ
KAS	: Klinik ataçman seviyesi
KMD	: Kemik mineral densitesi
LDL	: Düşük densiteli lipoprotein
LPS	: Lipopolisakkarit

M-CSF	: Makrofaj koloni stimüle edici faktör
MCP-1	: Monosit kemoatraktan protein-1
MMP	: Matriks metalloproteinaz
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NO	: Nitrik oksit
OPG	: Osteoprotegerin
OSC	: Osteokalsin
PDGF	: Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PGE2	: Prostaglandin-E2
P. ginvivalis	: Porphyromonas gingivalis
Pİ	: Plak indeksi
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
PTH	: Paratiroid hormon
RA	: Romatoid artrit
RANK	: Reseptör aktivatör nükleer faktör-kappa B
SK%	: Sondlamada kanama yüzdesi
sRANKL	: Çözünebilir reseptör aktivatör nükleer faktör-kappa B ligand
sTNF-R1	: Çözünür TNF tip 1 reseptör
Th	: T helper hücre
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü-β
TNF-α	: Tümör nekroz faktör-α
TRG	: Trigliserit
TK	: Total kolesterol
VCAM-1	: Vasküler hücre adezyon molekülü
VKİ	: Vücut kütle indeksi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kemiğin remodelling fazları

Şekil 2. Ghrelinin aktivite gösterdiği doku ve organlar

Şekil 3. Ghrelin düzeyini arttıran ve azaltan faktörler

Şekil 4. Grup ve cinsiyetin birlikte varlığının total ghrelin düzeyine etkisi

Şekil 5. Grup ve cinsiyetin birlikte varlığının açil ghrelin düzeyine etkisi

TABLolar DİZİNİ

- Tablo 1.** Kemik döngüsünün belirteçleri
- Tablo 2.** 1999 AAP periodontal hastalık sınıflandırması
- Tablo 3.** Kronik periodontitisin klinik bulguları ve karakteristik özellikleri
- Tablo 4.** Çalışma gruplarının demografik ve klinik özellikleri
- Tablo 5.** Cinsiyete göre oluşturulan alt grupların demografik ve klinik özellikleri
- Tablo 6.** Cinsiyete göre oluşturulan alt grupların grup içi demografik ve klinik özellikleri
- Tablo 7.** Çalışma gruplarının periodontal parametrelerinin karşılaştırılması
- Tablo 8.** Cinsiyete göre oluşturulan alt grupların gruplar arası periodontal parametrelerinin karşılaştırılması
- Tablo 9.** Cinsiyete göre oluşturulan alt grupların grup içi periodontal parametrelerinin karşılaştırılması
- Tablo 10.** Çalışma gruplarının ve cinsiyete göre oluşturulan alt gruplarının serum ALP, OSC, sRANKL, IL-1 β ve TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 11.** Çalışma gruplarının ve cinsiyete göre oluşturulan alt gruplarının plazma total ve açil ghrelin düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 12.** Cinsiyete göre oluşturulan alt grupların grup içi plazma total ve açil ghrelin düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 13.** Grup ve cinsiyetin birlikte varlığının total ghrelin düzeyine etkisinin değerlendirilmesi
- Tablo 14.** Grup ve cinsiyetin birlikte varlığının açil ghrelin düzeyine etkisinin değerlendirilmesi
- Tablo 15.** Periodontal durum ve artmış total ghrelin düzeyi arasındaki ilişkinin ki-kare testi ve risk değerlendirmesi
- Tablo 16.** Periodontal durum ve artmış açil ghrelin düzeyi arasındaki ilişkinin ki-kare testi ve risk değerlendirmesi
- Tablo 17.** S grubunda ve cinsiyete göre oluşturulan alt gruplarında periodontal parametrelerle kan parametreleri arasındaki korelasyonlar

Tablo 18. KP grubunda ve cinsiyete göre oluşturulan alt gruplarında periodontal parametrelerle kan parametreleri arasındaki korelasyonlar

1. GİRİŞ

Ghrelinin ilk kez 1999 yılında Kojima ve arkadaşları tarafından keşfedilen peptid yapıda bir hormondur (Kojima et al., 1999). Temel olarak mideden salgınmasına rağmen, hipotalamus, hipofiz, tükürük bezleri, diş, ince bağırsak, kalp, pankreas, immün sistem hücreleri ve osteoblastlar gibi birçok hücre grubu tarafından da bu hormonun salındığı rapor edilmiştir. (Kojima et al., 1999, Hattori et al., 2001, Horvath et al., 2001, Gnanapavan et al., 2002, van der Lely et al., 2004, Ueberberg et al., 2009).

Ghrelininle ilgili çalışmaların büyük bir kısmı bu hormonun endokrin fonksiyonları ile ilgilidir. Ancak yakın dönem çalışmalar ghrelinin sadece endokrin fonksiyonlarının olmadığını, immün sistem ve kemik metabolizması üzerine de modülatör etkilerinin olduğunu göstermektedir. (Fukushima et al., 2005, Kim et al., 2005, Maccarinelli et al., 2005). Yapılan çalışmalarda ghrelinin lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenmiş dolaşımdaki ve dokudaki interlökin (IL)-1 β , IL-6 ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) gibi proenflamatuar sitokinlerin seviyelerini önemli ölçüde azalttığı ve güçlü anti-enflamatuar aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Dixit et al., 2004, Vila et al., 2007). Ghrelinin anti-enflamatuar aktivitesinin yanı sıra osteoblastların farklılaşmasını ve çoğalmasını indükleyerek kemik yapımını arttırdığı rapor edilmiştir (Fukushima et al., 2005, Kim et al., 2005, Maccarinelli et al., 2005). Yine yapılan çalışmalarda ghrelinin osteoblast farklılaşmasının belirteçlerinden alkalen fosfataz (ALP), osteokalsin (OSC) ve kolajen tip 1 salgınını arttırdığı (Deng et al., 2008), ayrıca çözünebilir reseptör aktivatör nükleer faktör kappa-B ligand (sRANKL) ile negatif, osteoprotegerin (OPG) ile ise pozitif bir korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Ozkaya et al., 2007).

Sistemik hastalıklarda kan ghrelinin düzeyinin değerlendirildiği çalışmalarda ankilozan spondilit, Crohn's hastalığı, enflamatuar bağırsak hastalığı gibi kronik enflamatuar hastalıklarda dolaşımdaki ghrelinin düzeyinin arttığı (Karmiris et al., 2008), metabolik sendrom, tip 2 diyabet, obezite gibi metabolik hastalıklarda ise dolaşımdaki düzeyinin azaldığı rapor edilmiştir (Suematsu et al., 2005). Bu çalışmalar dolaşımdaki ghrelinin düzeyinin sistemik enflamasyon varlığından

etkilendiğini göstermektedir. Aynı zamanda kronik hastalıklarda ghrelin uygulaması sonucu hastalık şiddetinin gerilediğinin gözlenmesi, bu hormonun kronik enflamatuvar hastalıkların tedavisinde terapötik amaçla kullanılabileceğini düşündürmektedir (Kodama et al., 2008).

Periodontitis, bir grup Gram (-) bakterinin neden olduğu, bağ doku ve kemik yıkımıyla karakterize, kronik enflamatuvar bir hastalıktır (Loesche and Grossman 2001, Cobb et al., 2009). Mikroorganizmalar primer etiyolojik ajan olmakla birlikte, bağ doku ve alveoler kemik kaybindan enflamasyonun kimyasal mediyatörleri sorumludur. Periodontal hastalıkta meydana gelen immün cevap proenflamatuvar sitokinler, anti-enflamatuvar sitokinler ve sitokin reseptörlerinden oluşan kompleks bir sitokin ağı ile düzenlenir (Opal and DePalo 2000, Yucel et al., 2008). Yapılan çalışmalarda periodontitisli bireylerde dolaşımdaki ve periodontal dokulardaki IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α , interferon- γ (INF- γ) gibi proenflamatuvar sitokin seviyelerinin arttığı tespit edilmiştir (Gorska et al., 2003, Bretz et al., 2005, Orozco et al., 2006, Pradeep et al., 2009b). Ayrıca artan bu proenflamatuvar sitokinlerin RANKL ekspresyonu indükleyip, OPG salımını baskılayarak alveoler kemik yıkımına neden olduğu gösterilmiştir (Nakashima et al., 2000, Nagasawa et al., 2007). Aynı zamanda periodontitiste meydana gelen bu enflamatuvar reaksiyonların periodontal dokularda sınırlı kalmayıp, sistemik düzeyde enflamatuvar bir yanıtı neden olduğu ortaya çıkmıştır (Li et al., 2000, D'Aiuto et al., 2005, Bizzarro et al., 2007). Meydana gelen bu sistemik enflamasyona bağlı olarak, diğer kronik enflamatuvar hastalıklarda olduğu gibi, periodontitiste de dolaşımdaki ghrelin düzeyinde değişiklik meydana gelebileceği akla gelmektedir. Ancak literatürde periodontitisli bireylerde dolaşımdaki ghrelin düzeyinin değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada (1) kronik periodontitisli bireylerde plazma ghrelin düzeyinin değerlendirilmesi, (2) ghrelinin periodontal hastalıktaki klinik periodontal parametreler, serum sitokin düzeyleri ve serum kemik turnover belirteçleri ile ilişkili olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Kemik Metabolizması

Kemik, yapısal ve metabolik uyarıcılara adaptasyon gösterebilen, metabolik olarak aktif bir dokudur (Schwartz et al., 1997, Robling et al., 2006). Esas fonksiyonu normal postürün ve bedensel hareketlerin sağlanmasıdır. Bunun yanı sıra beyin ve spinal kord gibi önemli yapıları korur ve kalsiyum, fosfor, magnezyum, sodyum ve diğer iyonlar için depo görevi görür. Ayrıca hematopoeziste ve immün sistemde de fonksiyon gösterir (Jepsen 2009).

2.1.1. Kemik Hücreleri

Kemik dokusunda bulunan hücreler farklı orijinlere sahiptir ve farklı uyarıcılarla çoğalır ve farklılaşır (Robling et al., 2006). Kemik dokusunun ana hücreleri osteoblastlar, osteoklastlar, bone lining hücreler ve osteositlerdir. Bu hücreler mineralize kemik matriksi içerisindeki lakünelarda yerleşmişlerdir (Manolagas 2000, Matsuo 2009).

2.1.1.1. Osteoblastlar

Osteoblastlar tek çekirdekli, terminal farklılaşma göstermeyen özelleşmiş hücrelerdir (Caetano-Lopes et al., 2007). Mezenşimal prekürsör hücrelerden köken alırlar ve kemik formasyonundan sorumludurlar (Mackie 2003, Stains and Civitelli 2003). Kuvvetli ALP reaksiyonu gösterirler. Diferansiye olduktan sonra kemik matriksi (osteoid) sentezleyebilme yeteneğini kazanırlar (Mackie 2003). Bazı osteoblastlar kendi kemik matriksleri içerisinde kalırlar ve osteoid sekresyonları sona erer. Bu hücreler osteosit olarak adlandırılırlar (Schwartz et al., 1997, Mackie 2003).

Osteoblastlar iskeletsel yapının oluşturulmasında ve devamlılığında önemli rol oynarlar. Kemik matriksinin depozisyonundan sorumludurlar ve bunun yanı sıra kemik rezorpsiyonunu sağlayan osteoklastların farklılaşmasını ve aktivitesini de düzenlerler. Ayrıca indirekt olarak, osteoklastik aktiviteyi düzenlemesi yolu ile kalsiyum homeostazında da önemli rol oynarlar (Mackie 2003).

2.1.1.2 Osteositler

Kemikte en fazla bulunan hücre grubudur. Olgun kemik hücreleri olarak tanımlanırlar. Bu hücreler lakünalarında tek olarak bulunurlar ve çoğalma yetenekleri yoktur. Birbirleri arasında ve çevrelerindeki ortamla sürekli bir etkileşim içerisindedirler. Bu nedenle osteositler, osteoklastların ne zaman ve nerede rezorpsiyon yapacağını ya da osteoblastların ne zaman ve nerede kemik formasyonunu başlatacağının belirlenmesinde mekanosensör olarak görev yaparlar (Manolagas 2000, Caetano-Lopes et al., 2007).

2.1.1.3 Osteoklastlar

Hematopoetik sistemin monosit/makrofaj prekürsör hücrelerinden köken alırlar, ancak farklılaşması osteoblast kökenli iki faktörün varlığına bağlıdır. Osteoblastlar veya kemik iliği stromal osteoblast prekürsör hücreleri, makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF) salgırlar ve hücre yüzey proteini olan RANKL'a sahiptirler. RANKL osteoklast progenitörlerindeki reseptörüne (RANK) bağlanır. Osteoblastlar ayrıca RANKL'ın geciktirici reseptörü olan OPG sekrete ederler ve bu şekilde osteoklast farklılaşmasını inhibe edebilirler (Mackie 2003, Troen 2003). Osteotropik bir ajan olan paratiroid hormon (PTH) da osteoblastlardan RANKL ekspresyonunu arttırarak osteoklast farklılaşmasını uyarır (Manolagas 2000, Mackie 2003).

Osteoklastlar, osteoklastik bir enzim olan tartrat rezistans asit fosfataz ekspresyonu ile tanınırlar ve genellikle üç veya daha fazla çekirdeğe sahiptirler. Bir

diğer karakteristik özellikleri de kemiğe komşu kenarlarının fırçasmsı yapıda olması ve kemikle bu fırçasmsı kenar arasında saydam bölge ya da yapışma bölgesi olarak adlandırılan subosteoklastik bir kompartımanın bulunmasıdır (Katagiri and Takahashi 2002, McCauley and Nohutcu 2002). Saydam bölgenin varlığı rezorbe edilecek kemik yüzeyine sıkıca bağlanmayı sağlarken, fırçasmsı kenar bölgesi kemik yıkımını gerçekleştirir. Fırçasmsı kenara komşu alanda bulunan kemik, organik ve inorganik bileşenlerine ayrılır (Manolagas 2000, Elçi 2004).

2.1.1.4 Bone Lining Hücreleri

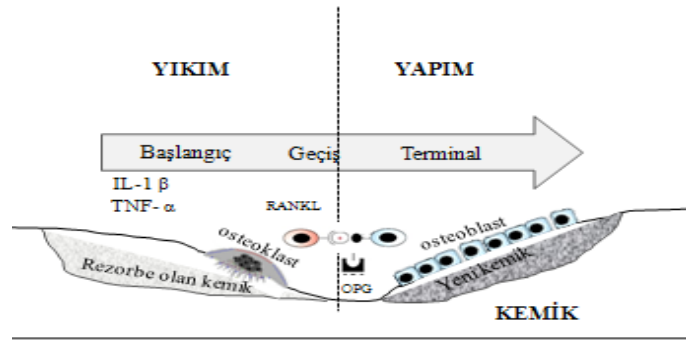
Pasif durumdaki kemik yüzeyi 1-2 µm kalınlığında mineralize olmayan kolajen matriks ve bu matriksin üst yüzeyinde düz ve uzamış bir hücre tabakası içerir. Bu hücreler bone lining hücreleri olarak adlandırılırlar. Osteoblastların bone lining hücrelerine dönüşümü bu hücrelerin kemik yapım fonksiyonlarının sona erdiğinin bir göstergesidir. Osteoklastlar mineralize olmayan, kolajen kemik yüzeyine tutunamazlar. Bu nedenle, osteoklastlar kemik yüzeyine tutunmadan önce, diğer hücreler tarafından, muhtemelen bone lining hücreleri, kolajenaz salınarak matriks ortadan kaldırılır. Osteoklast prekürsörlerinin kemik üzerindeki spesifik lokalizasyonlarda fonksiyon göstermesi için gerekli sinyalin bone lining hücreleri tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir. Bone lining hücrelerinin bu sinyali başlatmasında ise osteositler görev almaktadır (Parfitt 1994, Parfitt et al., 1996, Manolagas 2000).

2.1.2. Kemik Yapım ve Yıkım Dengesi

Kemiğin yapılanması (modeling) ve yeniden yapılanması (remodelling) osteoblastlar ve osteoklastlar arasındaki iletişime bağlıdır (Schwartz et al., 1997). Modeling gelişim döneminde gözlenir ve kemiğin boyutundaki ve şeklindeki değişiklikler, yani yıkım ve yapım, farklı alanlarda, birbirlerinden bağımsız olarak gerçekleşir. Tam tersine remodelling ise sağlıklı bireylerde gözlenir ve kemiğin

şeklinde ve boyutunda önemli değişiklikler olmaz. Remodelling sırasında kemik yapımı ve yıkımı bir denge içerisinde ve bu olay dinamik bir süreçtir. Bu yolla ekstraselüler kalsiyum seviyesi düzenlenir ve mekanik yüklere karşı cevap oluşur. Remodellingde temel prensip yıkım ve yapım olaylarının birlikte gerçekleşmesidir (coupling) (Matsuo 2009). Osteoblastlar ve osteoklastlar arasındaki bu etkileşim Basic Multicellular Unit (BMU) olarak tanımlanır. Buna göre BMU’da osteoklastlar tarafından yıkılan kemik miktarı osteoblastlar tarafından yeniden yapılan kemik miktarına eşittir (Sims and Gooi 2008).

Kemiğin remodellingi temel olarak üç faza ayrılabilir: başlangıç fazı, geçiş fazı ve terminal faz (Şekil 1).



Şekil 1: Kemiğin remodelling fazları
Matsuo and Irie (2008)’den modifiye edilmiştir.

1. Başlangıç fazı

Bu faz osteoklast prekürsör hücrelerinin rezorpsiyon alanına toplanmasını, farklılaşmasını ve osteoklastların aktivasyonunu içerir ve kemik rezorpsiyonunun gerçekleştiği dönemdir. İnsan kemiğinde osteoklastik kemik rezorpsiyonunun yaklaşık olarak üç hafta sürdüğü tespit edilmiştir.

Osteoklastogenezisin başlaması büyük oranda osteoklast prekürsör hücrelerinin ve osteoblast ayrımındaki hücrelerin birbirleriyle etkileşimine bağlıdır. Bu fazda bone lining hücreler RANKL salımı yaparlar ve ayrıca osteoklast prekürsör hücrelerinde RANK üretimini indükleyerek kemik yıkımının başlamasında rol oynarlar (Matsuo and Irie 2008).

2. Geçiş fazı

Bu fazda kemiği rezorbe eden osteoklastlar, osteoblast prekürsör hücrelerinin farklılaşmasını stimüle ederler ve böylece rezorpsiyon lakunalarında kemik yapımını aktive etmiş olurlar. Kemik yapımının aktive olması, kemik yıkımının durmasına ve osteoklastların apoptozis sürecine girmesine neden olur (Matsuo and Irie 2008).

Geçiş fazı sırasında coupling periyodu kritik önem taşır. Coupling, hücresele seviyede kemik yıkımından kemik yapımına geçişi değerlendiren özel bir mekanizmadır. Osteoklastik kemik yıkımı sırasında salınan transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), kemik morfogenezik proteinler, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF)-2 ve platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)-BB gibi büyüme faktörlerinin aynı zamanda osteoblastik kemik yapımını da aktive ettiği düşünülmektedir (Schwartz et al., 1997, Matsuo and Irie 2008).

Rezorpsiyon fazının sonunda aktif osteoklastlar apoptozis ile ortamdaki ayrılırken, PDGF-BB sekresyonları sona erer ve proliferasyon yapan osteoblast prekürsör hücreleri matür osteoblastlara farklılaşırlar ve böylece kemik yapımı başlar (Kubota et al., 2002, Grano et al., 1996, Matsuo and Irie 2008).

Rezorpsiyon lakunalarında kemik kolajeninin osteoklastlarca proteolitik yıkımı kemik yıkımı ve yapımı arasındaki bağlantının zorunlu bir etabını oluşturur. Osteoklastların rezorptif aktivitesinden sonra lakünalara gelen bone lining hücreleri matris metalloproteinaz (MMP)'lar aracılığıyla demineralize kolajeni ortadan kaldırırlar ve sement benzeri, ince bir fibriller kolajen tabakası oluştururlar. Bu olayı takiben osteoblastlar tarafından osteoid depozisyonu ve gerçek kemik oluşumu meydana gelir (Everts et al., 2002).

3. Terminal faz

Osteoblastik kemik yapımı başladıktan sonra kemik formasyon süreci yavaş bir şekilde ilerler ve rezorpsiyon sürecine göre daha uzun sürer. Terminal fazın osteoblastik kemik yapımı sırasında osteoklast farklılaşması baskılanır. Bu süreçte osteoblastlarca üretilen OPG'nin önemli rolü olduğu düşünülmektedir.

Osteoklastlar ve osteoblastlar arasındaki etkileşim sadece kemik kütlesini değil, aynı zamanda kalitesini de etkiler. Kemik remodellinginin baskılanması kemik yapısında azalmaya neden olur. Kemik hücrelerinin diğer hücrelerle etkileşimi yani osteoklastlarla veya osteoblastlarla nöronlar, endotel hücreleri ve diğer hücreler

arasındaki dinamik interselüler etkileşim, kemik bütünlüğünün sağlanmasında kritik rol alabilir (Matsuo and Irie 2008).

2.1.3. Kemik Metabolizmasının Düzenleyici Mekanizmaları

Kemik yapım ve yıkımının düzenlenmesi çeşitli faktörler tarafından kontrol edilir. Bu faktörler;

1- Hormonlar (PTH, 1,25 dihidroksivitamin D₃, kalsitonin büyüme hormonu (GH), insülin, glikokortikoidler, cinsiyet hormonları, tiroid hormonları)

2- Büyüme faktörleri (IGF-1, TGF- β gibi)

3- Sitokinler (IL-1, IL-6, TNF- α gibi)

4- Kemik kaynaklı büyüme faktörleri

5- Elektriksel ve mekanik kuvvetler

6- Diğer faktörler (RANKL, OPG, prostaglandin (PG)E₂, M-CSF, nitrik oksit (NO) gibi) olarak sıralanabilirler (Schwartz et al., 1997, Watts 1999, Taştaban 2008).

Yakın dönemde RANKL, RANK ve OPG'nin osteoklastların aktivasyonunda ve formasyonunda çeşitli sitokinler ve kalsiotropik hormonlarla etkileşime girerek anahtar rol oynadıkları tespit edilmiştir (Vega et al., 2007).

2.1.3.1. Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör- κ B (RANK) ve Ligandı (RANKL)

RANKL esas olarak osteoblast/stromal ve sinoviyal hücreler gibi mezenşimal hücrelerden salınır. Ancak enflamatuvar alanlarda T hücresi, B hücresi gibi immün sistem hücrelerinden de salındığı gösterilmiştir. RANKL membran bağlı molekül olarak fonksiyon gösterir ve hücre yüzeyinden çözünebilir bir molekül olarak salınır. Hem çözünebilir hem de membran bağlı RANKL, RANK için agonistik etki gösterir ve osteoklastlar için kemotaktik ve yaşamsal bir faktördür. Osteoklastogenezis için osteoklast prekürsör hücrelerinden RANK ve osteoblastlardan RANKL ekspresyonu

önemlidir (Nagasawa et al., 2007, Cochran 2008, Nakashima and Takayanagi 2009, Bartold et al., 2010).

Yeterli miktarda M-CSF varlığında RANKL'in osteoklast farklılaşmasının uyarılması için gerekli ve yeterli olduğu tespit edilmiştir. RANKL'in ayrıca osteoklast aktivasyonunu ve osteoklastların kemik yüzeyine tutunmasını arttırdığı bulunmuştur.

RANKL osteotropik etkisinin yanında önemli immünomodülatör fonksiyonlara da sahiptir. RANKL'in T hücre aktivasyonunu düzenlediği ve dendritik hücrelerin immünostimülatör aktivitelerini arttırdığı gözlenmiştir (Hofbauer and Heufelder 2001).

RANK, osteoklast prekürsör hücrelerinden ve matür osteoklastlardan eksprese edilen bir transmembran molekülüdür. RANK'ın RANKL ile bağlanması monosit/makrofaj prekürsör hücrelerinin osteoklastik ayrıma girmesine ve osteoklastların aktivasyonuna neden olur (Nakashima and Takayanagi 2009).

Yapılan çalışmalarda PTH, PTH ile ilişkili peptid, TNF- α , IL-1, IL-11, tiroid hormonu, 1,25-dihidroksivitamin D₃ ve PGE2 gibi çeşitli faktörlerin osteoblastlardan RANKL ekspresyonunu arttırmak yoluyla osteoklastogenezisi arttırdığı gösterilmiştir (Matsuo and Irie 2008).

2.1.3.2. Osteoprotegerin (OPG)

Osteoblastlar RANKL'in yanı sıra OPG de eksprese ederler. OPG, RANKL'ı baskılayarak RANK sinyalinin inhibisyonuna neden olur ve bu şekilde osteoklast-osteoblast iletişimini engeller. OPG'nin osteoklast prekürsör hücrelerinin farklılaşmasını, füzyonunu ve yaşam sürelerini inhibe ettiği, ayrıca osteoklast aktivasyonunu baskıladığı bulunmuştur. OPG eksikliği olan farelerde osteoklastların sayısında ve aktivitesinde artış olduğu ve buna bağlı olarak şiddetli osteoporoz görüldüğü tespit edilmiştir (Hofbauer and Heufelder 2001, Nakashima and Takayanagi 2009).

Kemik remodellingi ile ilgili çeşitli hastalıklarda RANKL/OPG oranı osteoklastogenetik aktivitenin göstergesi olarak kullanılabilir (Matsuo and Irie 2008).

Ayrıca insanlarda kemik metabolizmasıyla ilişkili hastalıklarda RANK, RANKL ve OPG gen mutasyonlarının varlığı gösterilmiştir (Nakashima and Takayanagi 2009).

2.1.4.Kemik Metabolizmasına Ait Biyokimyasal Belirteçler

Kemik turnover sırasında kemiğe ait biyokimyasal parametrelerde akut değişiklikler meydana gelir. Bu nedenle metabolik kemik hastalıklarının değerlendirilmesinde biyokimyasal belirteçlerin değerlendirilmesi kullanışlı bir yöntemdir. İdeal bir biyokimyasal belirtecin kemiğin yapım veya yıkımından birisi için spesifik olması gerekir. Ayrıca plazma yarılanma süresi, metabolizması, vücuttan atılma süresi bilinmeli ve serum, plazma gibi vücut sıvılarında ölçülebilmelidir. Ancak tüm bu özellikleri bir arada barındıran ideal bir belirteç bulunmamaktadır.

Kemik döngüsünde sıklıkla yıkıma yönelik olarak asit fosfataz, hidroksiprolin, hidroksilizin, pridinolin, hidroksipridinolin ve N-terminal telopeptid; yapıma yönelik olarak ALP, OSC ve tip 1 karboksiterminal propeptid değerlendirilmektedir. Kemik metabolizmasında yapıma ve yıkıma yönelik moleküller tablo 1’de özetlenmiştir (Swaminathan 2001).

Tablo 1: Kemik döngüsünün belirteçleri

	Spesifitesi	Ana hücre kaynağı
Kemik yapımı		
Total Alkalen fosfataz	+	Karaciğer/kemik
Kemik Alkalen fosfataz	++	Kemik (osteoblast)
Osteokalsin	+++	Kemik (osteoblast)
Procollagen type I C-terminal peptide	+	Kemik (osteoblast), deri (fibroblast)
Kemik sialoprotein	?	Kemik (osteoblast)
Osteonektin	?	Kemik (osteoblast), kan (platelet)
Kemik yıkımı		
Tip 1 karboksiterminal propeptid	++	Kemik (osteoklast)
Hidroksiprolin	+	Bağ dokusu (kolajen)
Hidroksilizin glikozid	++	Bağ dokusu (kolajen)
Pridinolin	++	Kemik ve kartilaj (kolajen)
Hidroksipridinolin	+++	Kemik ve dentin (kolajen)
N-terminal telopeptid	+++	Kemik ve dentin (kolajen)
C-terminal telopeptid	+++	Kemik ve dentin (kolajen)

2.1.4.1. Osteokalsin (OSC)

OSC kolajen olmayan, yüksek oranda glutamik asit (GLA) içeren kemik proteindir ve neredeyse sadece kemikte eksprese edilir. Kemik GLA proteini olarak da bilinir. OSC mineral depolanmasında ve kemiğin remodellinginin düzenlenmesinde rol oynar. Serum OSC konsantrasyonu kemik yapımının spesifik bir indikatörüdür ve kemik yapımı sırasında serum OSC düzeyinin arttığı tespit edilmiştir (Watts 1999, Swaminathan 2001).

Matriks sentezi sırasında OSC dolaşıma salınır, ancak kısa yarılanma ömrü vardır ve böbrekler yoluyla yıkımı gerçekleşir (Watts 1999). Osteoblast farklılaşmasının geç döneminde miktarı önemli ölçüde artar. Bu dönemin aynı zamanda mineralizasyonun da başladığı dönem olması OSC'nin matriks mineralizasyonun düzenlenmesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Watts 1999, Caetano-Lopes et al., 2007).

2.1.4.2. Alkalen Fosfataz (ALP)

ALP hücrelerin plazma membranıyla ilişkili bir enzimdir. Esas fonksiyonu bilinmemekle birlikte birçok farklı hücrede bu enzimin üretilmesi ALP'nin hücre içinde bulunan moleküllerin hücre dışına çıkarılmasında görev aldığını düşündürmektedir.

ALP kemik metabolizmasında hem matriks sentezinde hem de kalsifikasyonda önemli rol oynar. ALP organik fosfatın hidrolizine neden olarak fosfatın, kalsiyum iyonlarıyla birleşerek kalsiyum tuzları şeklinde osteoid matriks içerisine çökmesine neden olur. Diğer taraftan hidroksiapatit kristal formasyonunun güçlü bir inhibitörü olan inorganik profosfatın hidrolizini sağlayarak da mineralizasyonun artmasında rol oynar (Christenson 1997).

Kemik döngüsünün yapım fazında çok yüksek miktarda ALP üretilir. Bu nedenle kemik yapım aktivitesinin değerlendirilmesinde ALP iyi bir indikatördür. (Christenson 1997, Garnero and Delmas 1998, Watts 1999).

2.2. Periodontal Hastalık

2.2.1 Tanımı, Sınıflandırılması ve Epidemiyolojisi

Periodontal hastalık, bakteriyel birikime (dental plak) karşı, destek kemik ve bağ dokularında enflamatuvar cevap oluşumuyla karakterize, kronik, enfeksiyöz bir hastalıktır. Periodontal hastalık terimi gingivitis ve periodontitisi kapsar (Loesche and Grossman 2001). Gingivitis, dental plak bakterilerine ve onların ürünlerine karşı diş çevresi yumuşak dokularında enflamasyonla karakterize bir hastalıktır. Puberte, menstrüel siklus ve hamilelikte görülen hormonal değişiklikler ve bazı ilaçların kullanımı gingivitis gelişimini etkileyen faktörlerdendir (Mariotti 1994, 1999, Mascarenhas et al., 2003, Markou et al., 2009). Periodontitis ise dişi destekleyen periodontal ligament, alveoler kemik ve yumuşak dokularda enflamasyona bağlı yıkımla karakterizedir. Periodontitis bakterilere ve ürünlerine cevaben gelişen bir

hastalık olmasına rağmen, hastalığın seyri konak doku cevabı ile düzenlenir. Genetik, kazanılmış ve çevresel faktörler, patojene karşı oluşan doku cevabını etkileyerek periodontitise yatkınlığı arttırabilirler (Cobb et al., 2009).

Periodontitisin multifaktöriyel etiyojolojiye sahip bir hastalık olması, araştırmacıları hastalık oluşumu için predispozan risk faktörlerinin tanımlanması ve bu hastalığın farklı alt grupları için risk faktörlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapmaya yöneltmiştir (Stabholz et al., 2010). Periodontal hastalıkların sınıflandırılması ilk olarak 1989 yılında yapılmıştır. Ancak bu sınıflamadaki hastalık kategorilerinin üst üste bindirilmiş olması, gingival hastalıkların ayrı olarak ele alınmaması, hastalığın başlangıç yaşı ve ilerleyiş hızının tam olarak değerlendirilmemesi gibi eksiklikler nedeniyle Amerikan Periodontoloji Akademisi (AAP) 1999 yılında yeni bir sınıflandırma yapmıştır (1999 International Workshop for the Classification of the Periodontal Diseases) (Armitage 2000). Bu sınıflandırma sisteminde periodontal hastalığın etiopatogenezinin anlaşılması, tedavinin bilimsel olarak değerlendirilmesi ve hekimlerin hasta sağlığını korumada organize olabilmesi amaçlanmıştır (Tablo 2). Yine de bu sınıflandırma sistemi de evrensel olarak kabul görmemiştir ve periodontal hastalıkların etiolojisinin ve patogenezinin tam olarak anlaşılmasıyla beraber bu sınıflandırma sisteminde de değişikliklerin yapılacağı düşünülmektedir (Armitage and Cullinan 2010, Stabholz et al., 2010).

Tablo 2. 1999 AAP periodontal hastalık sınıflandırması

Gingival Hastalıklar <ul style="list-style-type: none">-Plağa bağlı gingival hastalıklar-Plağa bağlı olmayan gingival hastalıklar
Kronik Periodontitis <ul style="list-style-type: none">-Lokalize-Generalize
Agresif Periodontitis <ul style="list-style-type: none">-Lokalize-Generalize
Sistemik Hastalıkların Bir Bulgusu Olarak Periodontitis
Nekrozitan Periodontal Hastalıklar <ul style="list-style-type: none">-Nekrozitan ülseratif gingivitis-Nekrozitan ülseratif periodontitis
Periodonsiyum Apseleri <ul style="list-style-type: none">-Gingival apse-Periodontal apse-Perikoronar apse
Endodontik Lezyonlarla İlişkili Periodontitis <ul style="list-style-type: none">-Endodontik-periodontal lezyon-Periodontal-endodontik lezyon-Kombine lezyon
Gelişimsel ve Kazanılmış Deformiteler ve Durumlar <ul style="list-style-type: none">-Plağa bağlı dişeti hastalıklarını veya periodontitisi predispoze eden, lokalize, dişle bağlı faktörler-Dişin çevresindeki mukogingival deformiteler ve durumlar-Dişsiz alandaki mukogingival deformiteler ve durumlar-Okluzal travma

Gingival hastalıklar

Gingival hastalıklar çeşitli etiyolojik faktörlere bağlı kompleks hastalıklardır. Ancak tüm gingival hastalıklar benzer klinik özelliklere sahiptirler. Bu özellikler; enflamasyonun klinik özellikleri, hastalık işaret ve semptomlarının gingivada sınırlı kalması, etiyolojik faktörün ortadan kalkmasıyla beraber hastalığın geri dönebilmesi, hastalığın başlaması veya şiddetlenmesi için bakteri plağının varlığı olarak sıralanabilir (Armitage 1999, Mariotti 1999).

Plağa bağlı olmayan gingival hastalıklar ise bakteriyel, fungal ve viral enfeksiyonlara, liken planus, pemphigoid ve pemphigus vulgaris gibi hastalıklara, alerjik ve toksik reaksiyonlara, yabancı cisim reaksiyonlarına ve mekanik travmaya bağlı olarak gelişir (Holmstrup 1999).

Periodontitis

Periodontitisin temel klinik özellikleri ataçman kaybı, alveoler kemik kaybı, periodontal cep oluşumu ve gingival enflamasyondur. Ek olarak, dişetinde büyüme veya çekilme, sondlamada kanama, dişlerde mobilite artışı, patolojik migrasyon ve diş kaybı da gözlenebilir. Periodontitisin çoğu formu kronik seyirlidir; devamlı enflamasyon tablosu görülebileceği gibi, hastalık aktivitesinin episodik patlamaları şeklinde de ilerleyebilir (Flemmig 1999).

Kronik periodontitis dental plak mikroorganizmalarına karşı periodontal dokularda meydana gelen enflamatuvar bir cevaptır ve periodontal hastalıkların en sık gözlenen formudur. Hastalığın klinik görünümü oluşan enflamatuvar cevabın yapısına, dolayısıyla bireyin immün duyarlılığına bağlıdır (Ford et al., 2010). Periodontal dokulardaki yıkım miktarı lokal, sistemik veya çevresel faktörler tarafından modifiye edilebilir. Dişin anatomik durumu veya dental restorasyonlar gibi lokal faktörler plak birikiminin artmasına neden olurken, diyabet gibi sistemik hastalıklar konak doku cevabında bozulmaya neden olarak periodontal doku yıkımını arttırabilir. Ayrıca sigara, stres gibi çevresel faktörler de konak dokunun plağa karşı cevabını olumsuz yönde etkileyebilir (Loesche and Grossman 2001).

Kronik periodontitis sıklıkla hastalığın yaygınlığına ve şiddetine göre sınıflandırılır. Yaygınlığına göre yapılan sınıflamada, eğer etkilenen alan %30'dan az ise 'lokalize'; daha yaygın bir tutulum varsa 'generalize' olarak adlandırılır. Şiddetine göre ise, 'hafif' (ataçman kaybı 1-2 mm), 'orta düzeyde' (ataçman kaybı 3-4 mm) ve 'şiddetli' (ataçman kaybı ≥ 5 mm) olarak sınıflandırılır. Kronik periodontitisin yaygınlığı ve şiddeti hastalığın ilerlemesinin değerlendirilmesinde önemli bir belirteçtir, ancak bununla birlikte hastalığın ilerleyişinin değerlendirilmesinde ve tedavi planının belirlenmesinde hastanın yaşı da dikkate alınmalıdır. Kronik periodontitisin klinik bulguları ve karakteristik özellikleri tablo 3'te özetlenmiştir (Kinane 2003b).

Tablo 3. Kronik periodontitisin klinik bulguları ve karakteristik özellikleri

1.Prevelansı erişkinlerde daha yüksektir, ancak çocuklarda ve gençlerde de görülebilir.
2.Periodontal yıkım miktarı oral hijyen seviyesiyle ve mevcut plak miktarıyla uyumludur.
3.Lokal predispozan faktörler ve sigara, stres, diyabet gibi sistemik risk faktörleri konak cevabını olumsuz yönde etkileyebilir.
4.Subgingival diş taşı varlığı yaygın bir bulgudur.
5.Mikrobiyal plak kompozisyonu değişkendir.
6.Etkilenen alan %30'dan az ise 'lokalize', fazla ise 'generalize' kronik periodontitis olarak sınıflandırılır.
7.Hastalığın şiddetine göre 'hafif', 'orta düzeyde' ve 'şiddetli' olarak da sınıflandırılabilir.
8.Etiyolojik faktör mikrobiyal dental plaktır, ancak konak faktörleri hastalığın patogenezini ve ilerleyişini etkiler.
9. Hastalığın ilerleyişi ancak tekrarlanan klinik muayenelerle anlaşılabilir.

Agresif periodontitis AAP'nin sınıflandırmasına göre güçlü genetik komponenti olan ve ailesel geçiş gösteren bir hastalıktır ve ailesel geçişin görülmesi tanı için önemli bir kriterdir (Stabholz et al., 2010). Sistemik olarak sağlıklı bireylerde yoğun diş taşı ve plak birikimi olmamasına rağmen, şiddetli ataçman kaybı ve kemik yıkımıyla karakterizedir. Sıklıkla yaşamın 2. ve 3. dekatlarında gözlenir (Armitage 1999, Hughes et al., 2006, Armitage et al., 2010).

Periodontitisin epidemiyolojisine yönelik çalışmalar bireylerin az ya da çok periodontitise duyarlı olduğunu göstermiştir (Loesche and Grossman 2001). Epidemiyolojik çalışmalarda periodontitis tanı kriterlerinin farklılık göstermesi hastalığın prevelansında çeşitliliklere neden olmaktadır (Demmer and Papapanou 2010). Tanı kriterlerindeki bu farklılık direkt olarak veri toplanmasındaki metodolojik uyumsuzlukla ilgili olabileceği gibi, vakanın tanımlanmasındaki farklılıklarla da ilişkili olabilir. Yakın dönemde, vaka tanımlamasının periodontitis prevelansı üzerine etkisine yönelik yapılan metodolojik bir çalışmada, periodontitis prevelansının %14-65 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Costa et al., 2009). Genel kanı, bölgeye spesifik periodontitis tanısı için klinik enflamatuvar bulguların

kombine varlığı, bağ doku kaybı ve periodontal cep oluşumunun gerekli olduğu yönündedir. Yine yakın dönemde periodontitis tanı kriterlerinin değerlendirildiği bir epidemiyolojik çalışmada, bölgeye spesifik eşik değerlerin sondlama derinliği için ≥ 3 mm ve ≥ 6 mm arasında, ataçman kaybı için ise ≥ 2 mm ve ≥ 6 mm arasında değiştiği gözlenmiştir. Bu çalışmalarda, periodontitis tanımlamasında minimum eşik değerinin klinik ataçman seviyesi (KAS) için 2 mm, periodontal cep derinliği (CD) için 3 mm olduğu yönünde bir sonuca varılabilir (Savage et al., 2009).

Generalize şiddetli periodontitis prevalansı 1999 AAP eşik değeri baz alındığında %6-50 arasında bulunmuştur ve en yüksek değer (%92) Brezilya toplumuna ait bir kohort çalışmada ve 70 yaş üstü bireylerde tespit edilmiştir (Demmer and Papapanou 2010). Ayrıca Fransa'da yapılan bir başka çalışmada, orta şiddetteki periodontitisin lokalize ve generalize formlarda eşit derecede görüldüğü, buna karşın şiddetli periodontitisin sıklıkla generalize formla birlikte görüldüğü belirtilmiştir (Bourgeois et al., 2007).

Son yıllarda periodontal hastalığın başlaması, ilerlemesi ve tedaviye cevabına yönelik biyolojik ve davranışsal faktörlerin anlaşılmasına yönelik ilerlemeler, bu bilgilerin hastanın risk analizinin belirlenmesinde kullanımını gündeme getirmiştir. Böylece bireyin hastalığa yakalanma riski, hastalığın prognozu ve tedavi alternatifleri daha doğru bir şekilde belirlenebilmektedir (Garcia et al., 2009).

Risk değerlendirmesi hastalığın yayılımını, şiddetini ve hastalık oluşumunda etkili olabilecek faktörlerin tanımlanmasını içerir. Risk faktörleri çevresel, davranışsal veya biyolojik olabilir ve herhangi bir risk faktörünün varlığı kişinin hastalığa yakalanma ihtimalini artırır (Albandar 2002, Garcia et al., 2009). Periodontal hastalık için risk faktörleri arasında patojenik bakteri, mikrobiyal dental plak, diyabet ve sigara sayılabilir. Genetik faktörler, yaş, cinsiyet, sosyoekonomik durum ve stres ise modifiye edilemeyen risk faktörleri ya da risk determinantları olarak sınıflandırılabilir. Geçirilmiş periodontal hastalık ve sondlamada kanamanın varlığı ise periodontal hastalık için risk indikatörü olarak kabul edilir (Novak 2002).

2.2.2. Periodontal Hastalık Patogenezi

Enflamasyon, periodontal hastalıkların temel klinik bulgusudur ve etiyolojik faktör olan bakteriyel plak, konak dokuda enflamatuvar cevabı başlatır. Sağlıklı konak dokuda, az miktarda fakat farklı bakteri türlerini içeren plak, konağın savunma mekanizmaları tarafından kontrol edilir ve doku yıkımı görülmez. Plakta bulunan spesifik bakteriler ise çoğunlukla periodontal doku yıkımıyla ilişkilidir. Ayrıca spesifik patojenin farklı türleri, diğer türlerine göre daha virülant olup, daha fazla doku yıkımına neden olabilirler (Haake 2002).

Subgingival mikrobiyal kompozisyonun yapısını belirleyen ana faktör konak cevabıdır. Sağlıklı periodontal doku ile periodontitis arasındaki mikrobiyal açıdan en belirgin farklılık kırmızı kompleks bakteri türlerinin prevalansı ve miktarıyla ilişkili bulunmuştur. Periodontitisli bireylerde kırmızı kompleks bakterileri olan *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*) ve *Treponoma denticola* miktarının arttığı gösterilmiştir. Ek olarak, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* ve *Streptococcus intermedius* gibi bakterilerin de periodontal hastalık patogenezi katıldığı tespit edilmiştir (Socransky 2003, Kim and Amar 2006). Yine de periodontitisin basit bir Gram (-) anaerobik enfeksiyon olmadığı, Gram (+) bakterilerin ve hatta bakteri olmayan mikroorganizmaların da (Archaea türü gibi) hastalık etiyolojisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (Armitage 2010). Bakterilerin yanı sıra human cytomegalovirus, Epstein-Barr virus gibi virüslerin de periodontitis etiyolojisi içerisinde yer aldığı tespit edilmiştir (Slots et al., 2003).

Kronik periodontitis gelişiminin histolojik ve immünohistolojik özelliklerinin tanımlanması sadece hastalık patogenezinin anlaşılmasında değil, aynı zamanda hastalığın tedavi alternatiflerinin belirlenmesinde de önemli rol oynar (Smith et al., 2010). Gingivitisin ve devamında periodontitisin gelişimi histopatolojik olarak başlangıç, erken, yerleşmiş ve ilerlemiş lezyon olmak üzere 4 aşamada incelenmiştir (Page and Schroeder 1976). Bu aşamalar, her zaman kesin sınırlarla birbirlerinden ayrılamamasına rağmen, periodontitis gelişiminin değerlendirilmesinde ve kronik ve

agresif periodontitisin histopatolojik bulgularının karşılaştırılmasında önemlidir (Smith et al., 2010).

Kronik periodontitisin ‘başlangıç lezyonu’ plak birikimini takiben ilk 4 gün içinde gelişir. Bu aşama subklinik seyredir. Bakteri enzimlerine ya da ürünlerine karşı oluşan karakteristik immün cevap, kompleman sisteminin alternatif yolunun aktivasyonu sonucu gelişir. Anafilatoksin C3a ve C5a, mast hücrelerini aktive ederek vazoaaktif aminlerin salımına neden olur. Kan damarlarında dilatasyon meydana gelir, vasküler permeabilite artar ve ödem oluşur. Mikro çevredeki hidrostatik basınç artışıyla birlikte damar dışına sıvı ve protein çıkışı görülür. Eş zamanlı olarak dişeti oluşu sıvısı (DOS) artar, nötrofillerin gingival sulkusa göçü, bağ dokusunda bozulmalar ve TNF- α salımı görülür. Bu son olay endotelial hücrelerden adezyon moleküllerinin salımı için kritik bir aşamadır. Adezyon moleküllerinin salımını takiben nötrofillerin endotelial tabakaya adezyonu ve sonrasında migrasyonu gerçekleşir. Organize plak biyofilminin varlığı nötrofillerden lizozomal ajanların salımına neden olmasına rağmen, oluşan fagositoz çok şiddetli değildir. Yine de aşırı aktif olan bu ajanlar lokal doku yıkımını arttırmırlar. Bu aşamada, yaklaşık olarak %5-10 oranında bir doku yıkımı meydana gelir, ancak lezyon klinik olarak gözlenmez (Kinane 2003a, Smith et al., 2010).

‘Erken lezyon’ plak birikimini takiben 4-7 günde ortaya çıkar. Başlangıç lezyonunda konak defans mekanizmalarının enfeksiyonu ortadan kaldıramaması sonucu meydana gelir ve bu aşamada enflamatuvar hücre dengesinde değişiklikler gözlenir. Erken lezyon, hücresel seviyede lenfositlerin ve makrofajların artışı ile karakterizedir (Smith et al., 2010). Lenfositlerin yaklaşık %75’ini T lenfositleri oluşturur, CD4:CD8 oranı yaklaşık 2:1 şeklindedir (Berglundh and Donati 2005). Erken lezyonun gecikmiş tip hipersensitivite lezyonu ile benzer olduğu bildirilmiştir (Smith et al., 2010). Kapiller yapıda ve perivasküler alandaki enflamatuvar infiltrat birikiminde artış meydana gelir. Sonuç olarak gingivitis tablosu ortaya çıkar. Kolajen yıkım miktarı artarak ortalama %70 oranına ulaşır. Fibroblastlarda sitotoksik değişiklikler ve kolajen üretiminde azalma meydana gelir. Birleşim epitelinde rete peg formasyonu izlenmeye başlar. Klinik olarak eritem ve sondlamada kanama görülebilir (Page and Kornman 1997, Carranza 2002c, Kinane 2003a, Tatakis and Kumar 2005).

‘Yerleşmiş lezyon’ kronik gingivitis olarak da adlandırılır. Plak oluşumunu takiben 14-21 günde gözlenir. Bu aşamada kan damarları genişlemiş ve dolgunlaşmıştır. Ayrıca venöz dolaşım da bozulmuştur. Kırmızı kan hücrelerinin damar dışına çıkışı gözlenir. Buna bağlı olarak gingiva mavimsi kırmızı renkte görünür. Plazma hücrelerinin varlığı yerleşik lezyonun karakteristik bir özelliğidir. Plazma hücreleri sadece birleşim epitelinin altında değil, aynı zamanda derin bağ dokusunda da gözlenir. Birleşim epitelinde interselüler alanlar genişlemiştir ve granüler, hücresel debrisle doludur. Birleşim epitelinde meydana gelen rete pegler bağ dokusunun içerisine doğru uzamıştır. Ayrıca bu aşamada bazal laminanın bazı alanlarında da bozulmalar gözlenir. Bağ dokudaki kolajen lifler bozulmuştur ve bu alanları plazma hücresi, nötrofil, lenfosit, monosit ve mast hücrelerinden oluşan infiltrat doldurmuştur. Kolajen yıkımı devam etmesine rağmen yerleşmiş lezyonda kemik yıkımı gözlenmez.

‘İlerlemiş lezyon’ yerleşmiş lezyonun tüm karakteristik özelliklerini taşımakla beraber, kemik yıkımının da görüldüğü aşamadır. Lezyon bu aşamada gingiva içerisinde sınırlı kalmayıp periodontal ataçman aparatının bağ dokusuna doğru yayılır. İlerlemiş lezyonda dominant hücre tipinin plazma hücresi olduğu tespit edilmiştir. Bu aşamada plazma hücresiyle beraber lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu devam eder. Periodontal cep formasyonu, cep epitelinde ülserasyonlar, periodontal ligament ve alveolar kemik kaybı gözlenir. İlerlemiş lezyon aynı zamanda periodontitis olarak da adlandırılır (Carranza 2002c, Kinane 2003a).

Periodontal cep formasyonu, gingival sulkusun bağ doku duvarında enflamatuvar değişikliklerle başlar. Hücresel ve sıvı enflamatuvar eksuda, gingival fibrilleri de içeren çevre bağ dokusunda dejenerasyona neden olur. Birleşim epitelinin hemen apikalindeki kolajen fiberlerde de bozulmalar gözlenir ve bu alanlar enflamatuvar hücre ve ödem ile dolar.

Kolajen kaybına bağlı olarak birleşim epitelinin apikalindeki hücreler kök yüzeyi boyunca proliferer olur ve 2-3 hücre kalınlığında parmaklı çıkıntılar şeklinde apikale ilerler. Birleşim epitelinin koronal kısmı ise kök yüzeyinden ayrılır. Enflamasyonun bir sonucu olarak polimorfonükleer lökosit (PMNL)’ler birleşim epitelinin koronaline doğru migrate olurlar. Birleşim epitelindeki lökosit infiltrasyonunun derecesi enflame bağ dokusu miktarından bağımsızdır. Bu nedenle

linik olarak hafif enflamasyon tablosu varlığında bile yoğun lökosit birikimi gözlenebilir.

Devamlı enflamasyon varlığında cep epitelinin lateral duvarı proliferer olur ve enflame bağ dokusu içerisine doğru şişkin, kordon şeklinde uzantılar gösterir. Bağ dokusundaki lökositlere ve ödeme bağlı olarak cep epitelinde çeşitli derecelerde dejenerasyon ve nekroz meydana gelir.

Bağ dokusunda ise ödem ve en fazla plazma hücresi olmakla birlikte (yaklaşık %80) lenfosit ve PMNL hücresi içeren yoğun bir infiltrat görülür. Özellikle subepitelial tabakada kan damarlarının sayısı artmıştır, dilatasyon ve tıkanma mevcuttur. Bağ dokusunda çeşitli derecelerde dejenerasyon, tek veya çoklu nekroz odakları görülür. Eksudatif ve dejeneratif değişikliklere ek olarak endotelial hücrelerde çoğalma meydana gelir ve yeni oluşmuş kapiller, fibroblastlar ve kolajen fibriller izlenir.

Kronik periodontitis hastalarında periodontal cebin apikal ve lateral alanlarında bakteriyel invazyonun olduğu da tespit edilmiştir. Tanımlanan mikroorganizmaların çoğunun Gram (-) filament, rod ve kok türü olduğu gösterilmiştir. Bakteriler artmış interselüler alanlardan dokulara girerler ve aynı zamanda derin epitelial hücreler arasında ve bazal laminada da bulunurlar. Bazı bakterilerin bazal laminayı geçerek subepitelial bağ dokusuna da invaze olabildikleri gösterilmiştir (Carranza 2002b). Ancak bakteriyel invazyonun konak doku için önemli bir problem mi olduğu, yoksa konağın mikrobiyal antijenlere erkenden maruz kalmasının immün sistemleri uyarak, etkili bir yanıt oluşmasını mı sağladığı tam olarak bilinmemektedir (Kinane 2003a).

Mikroorganizmalar çeşitli çözünebilir enzimler üretirler ve böylece ekstraselüler konak proteinlerini ve diğer molekülleri sindirerek kendi yaşamlarını sağlayacak besinleri elde ederler. Bakteriler tarafından üretilen proteinazlar kolajen, elastin, fibronektin, fibrin gibi epitelial ve bağ dokusu komponentlerini yıkabilirler. Böylece periodontal doku yıkımı konak kaynaklı enzimlerin yanı sıra mikrobiyal enzimler aracılığıyla da meydana gelir.

Bakteri ürünleri direkt olarak konak dokuda yıkıma neden olabileceği gibi enflamatuvar ve hücrese/hümorale immün sistemleri uyarak sekonder olarak da doku yıkımına neden olabilirler. Gram (-) bakterilere ait LPS'nin hem enflamatuvar

hem de immün sistemleri aktive edebildiği, bununla beraber kan koagülasyon sistemi ve kompleman sistemi üzerine etki ederek hemostazisi bozduğu ve proenflamatuvar sitokin üretimine neden olduğu gösterilmiştir. Ek olarak amonyak, indol, hidrojen sülfid gibi bakteri son ürünleri de konak doku yıkımına katılırlar (Kinane 2003a).

Tedavi edilmemiş şiddetli periodontitiste ülsere cep epiteli alanının yaklaşık 8-20 cm² olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla bakteri ve ürünleri ile artmış enflamatuvar mediyatörlerin sistemik dolaşıma ulaşma potansiyeli oldukça yüksektir. Bu nedenle dental prosedürler ve çiğneme, diş fırçalama gibi günlük aktiviteler bakteriyemiye ve endotoksemiye neden olabilirler (Li et al., 2000, D'Aiuto et al., 2005). Şiddetli periodontitisi olan bireylerde enflamasyona ait belirleyicilerin ve mediyatörlerin serum düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Ayrıca periodontitisin endotelial disfonksiyonla ilişkili olduğu, şiddetli periodontitisi olan bireylerde serum interselüler hücre adezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), E-selektin düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir (Dixon et al., 2004, Pischon et al., 2007). Bununla beraber periodontitis varlığında serum von Willebrand faktörü ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 düzeylerinin arttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Bizzarro et al., 2007). Tüm bu bulgular periodontal enflamasyonun oral kavite ile sınırlı kalmadığını, genel sağlık üzerine de etkili olduğunu göstermektedir (Li et al., 2000, D'Aiuto et al., 2005, Bizzarro et al., 2007). Son yıllarda yapılan çalışmalarda periodontitisin kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, hamilelik komplikasyonları ve respiratuvar hastalıklar gibi pek çok sistemik hastalık için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (Mealey and Rethman 2003, Kim and Amar 2006, Seymour et al., 2007, Offenbacher et al., 2009).

2.3. Periodontal Hastalıkta Kemik Yıkım Mekanizması

Periodontal hastalıkta kemik kaybının en önemli nedeni enflamasyonun marjinal gingivadan periodontal destek dokulara ilerlemesidir. Kemik yüzeyinin enflamatuvar invazyonu ve başlangıç kemik kaybı gingivitisten periodontitise geçişin belirteci olarak kabul edilir (Carranza 2002a). Enflamasyona cevaben kemik yıkımının oluşması iki faktöre bağlıdır: (1) gingival dokulardaki enflamatuvar

mediyatör konsantrasyonu kemik yıkımında görevli mekanizmaları aktive edebilecek yoğunlukta olmalıdır. (2) enflamatuvar mediyatörler kemik yıkımını başlatabilecek kritik mesafeye kadar gingival dokulara penetre olabilmelidir (Cochran 2008).

Gingival enflamasyon, kolajen fiberleri boyunca ve kan damarlarını izleyecek şekilde derin dokulara ve alveoler kemiğe ilerler. Enflamasyon, yoğun olarak marjinal gingivada bulunmakla birlikte, meydana getirdiği reaksiyon daha derin dokulara yayılır ve sıklıkla kemiğe ulaşarak, krestal kemik rezorpsiyonu ya da ataçman kaybı olmadan önce kemik dokuda cevap oluşturur.

İnterproksimal alanda, enflamasyon genellikle kan damarlarının çevresindeki gevşek bağ dokusu arasına yayılır ve daha sonra kan damarları boyunca ilerleyerek interdental septum krestini delerek kemiğe ulaşır. Daha az sıklıkla enflamasyon, gingivadan periodontal ligament aracılığıyla interdental semptuma ulaşır. Fasiyal ya da lingual yüzeylerde ise enflamasyonun kemiğin dış periostal yüzeyi boyunca ilerlediği ve dış kortekste damarların perfore ettiği alanlardan kemiğe yayıldığı gözlenmiştir (Carranza 2002a).

Enflamasyon kemiğe ulaştıktan sonra kemik iliği boşluklarına yayılır ve kemik iliği lökosit ve sıvı eksuda, yeni kan damarları ve prolifer olmuş fibroblastlar ile yer değiştirir. Çok çekirdekli osteoklastların ve mononükleer fagositlerin sayısı artar ve bu hücreler kemik yüzeylerinde görülmeye başlar. Kemik iliği boşluklarında rezorpsiyona bağlı olarak trabekülleri çevreleyen kemik inceler ve kemik iliği boşlukları genişler. Bunu takiben kemik yıkımı ve kemik yüksekliğinde azalma meydana gelir.

Kemik kaybının derecesi enflamatuvar infiltrat miktarıyla pozitif korelasyon gösterirken, ortamda bulunan osteoklast hücrelerinin sayısı ile ilişkili değildir. Ancak enflamatuvar infiltratın apikal sınırı ile alveoler kemik kreti arasında kalan mesafenin hem alveoler krette bulunan osteoklast sayısı ile hem de total osteoklast sayısı ile korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca lokal olarak üretilen kemik rezorpsiyon faktörlerinin aktivitelerini gösterebilecek seviyede kemik yüzeyine yakın bulunduğu ve bu mesafenin yaklaşık olarak 1,5-2,5 mm olduğu tespit edilmiştir (Carranza 2002a).

Periodontal hastalıkta kemik yıkımı episodik karakterdedir. Aktif yıkım dönemleriyle birlikte inaktif ya da remisyon dönemleri şeklinde meydana gelir.

Destruktif fazın başlamasına neden olan faktörler bilinmemekle beraber, bu konuda farklı teoriler üretilmiştir:

1-Destruktif aktivite patlaması sungenival ülserasyonlarla ve akut enflamatuvar reaksiyonla ilişkilidir. Buna bağlı olarak alveoler kemik kaybı meydana gelir.

2-Destruktif aktivite patlaması T-lenfositlerinin baskın olduğu lezyonun B-lenfosit/plazma hücrelerinin baskın olduğu lezyona dönüşümüyle birlikte gözlenir.

3-Alevlenme periodları atake olmayan, hareketli, Gram (-) anaerobik flora ile remiyon periodları ise yoğun, hareketsiz, Gram (+) flora ile ilişkilidir.

4-Bir veya birkaç bakterinin dokuya invazyonu, bakteriyel saldırıyı durdurmak için aşırı doku reaksiyonunun oluşmasına neden olur (Carranza 2002a).

Yine de genel kanı periodontitisle ilişkili doku yıkımında sitokinlerin, hücre sinyal moleküllerinin ve matriks metalloproteinazların üretimindeki düzensizliklerin rolü olduğu yönündedir.

Periodontitiste enflamatuvar kemik yıkımının temel özelliği kemik yapımında bir artış olmaksızın osteoklastik aktivite artışıdır. Hem hayvan hem de insan çalışmalarında çok çekirdekli osteoklastların alveoler kemik rezorpsiyonunu gerçekleştirdiği tespit edilmiştir. Enflame periodontal dokularda osteoklast formasyonu sitokinler aracılığıyla düzenlenir ve periodontitis sürecinde bu aşamayı kontrol eden stratejiler belirlemek için, sitokin aracılı osteoklast aktivasyonunun temel mekanizmalarının bilinmesi gerekir (Wiebe et al., 1996, Rasmussen et al., 2000, Cochran 2008, Bartold et al., 2010).

İmmün sistem ve kemik çok sayıda regülatör sitokini ve diğer molekülleri paylaşır. Bugüne kadar çok sayıda anahtar regülatör molekül tanımlanmıştır ve bu moleküller genellikle RANKL, RANK, sinyal molekülleri ve transkripsiyon faktörleri ile ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda RANKL'ın periodontal kemik rezorpsiyonunda rol oynadığı gösterilmiştir (Bartold et al., 2010).

Enflamatuvar cevap oluşumu sırasında proenflamatuvar sitokinler, IL-1 β , IL-6, IL-11, IL-17 ve TNF- α gibi, RANKL ekspresyonunu artırarak osteoklastogenezisi başlatırken, osteoblast/stromal hücrelerinden OPG ekspresyonunun azalmasına neden olurlar. Bunun aksine, anti-enflamatuvar sitokinler, IL-13 ve INF- γ gibi, RANKL

ekspresyonunu azaltırken, OPG üretimini stimüle edebilirler (Nakashima et al., 2000).

Yapılan çalışmalarda enflame periodontal dokulardaki fibroblastlarda ve mononükleer hücrelerde RANKL üretiminin arttığı ve bu artışın kemik kaybı ile ilişkili alanlarda meydana geldiği tespit edilmiştir (Crotti et al., 2003, Nagasawa et al., 2007). Bir başka çalışmada T ve B hücrelerinin periodontal hastalıkla ilişkili kemik kaybında, RANKL'ın hücreyel kaynağı olduğu gösterilmiştir. Periodontal dokularda, T ve B hücrelerinden RANKL ekspresyonunun artışı, RANKL aracılı osteoklast farklılaşmasının fonksiyonel bir komponenti olarak düşünülmektedir (Kawai et al., 2006, Han et al., 2007).

P.gingivalis'in konsantrasyon bağımlı olarak T-hücrelerinden RANKL gen ekspresyonunu ve protein üretimini stimüle ettiği bulunmuştur. *P.gingivalis*'e karşı oluşan bu T hücre cevabının, kronik periodontitis hastalarında meydana gelen alveoler kemik yıkım patogenezine katıldığı düşünülmektedir (Belibasakis et al., 2010). Ayrıca *P. gingivalis*'in LPS aracılıyla kemik iliği stromal hücrelerinden RANKL üretimini aktive edip, OPG mRNA salımını ve protein üretimini baskıladığı ve bu etkilerini PGE2 aracılıyla gerçekleştirdiği tespit edilmiştir (Reddi et al., 2008).

Periodontitisli hastaların ve sağlıklı bireylerin DOS RANKL ve OPG konsantrasyonlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, periodontitisli hastalarda DOS RANKL seviyesi sağlıklı gruba göre daha yüksek, OPG seviyesi ise daha düşük bulunmuştur (Mogi et al., 2004). Ayrıca alveolar kemik kaybı görülen alanlardaki granülamatöz dokularda OPG seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir. Bu bulgu periodontitiste gözlenen kemik kaybında RANKL/OPG dengesinin önemli rol oynadığını göstermektedir (Nagasawa et al., 2007, Bartold et al., 2010).

Yapılan çalışmalarda genel kanı RANKL/OPG oranının periodontitisli bireylerde sağlıklı bireylere oranla arttığı yönündedir. RANKL/OPG oranındaki artışın periodontal hastalık şiddetiyle orantılı olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle RANK-RANKL-OPG yolunun inhibisyonuna yönelik terapötik yaklaşımların periodontal hastalıkla ilişkili kemik yıkımının önlenmesinde kullanılabileceği düşünülmektedir (Cochran 2008, Bartold et al., 2010).

Periodontitiste meydana gelen enflamasyon lokal ya da sistemik düzeyde kemik turnover belirteçlerinin konsantrasyonlarında değişikliklere neden olur. Kemik

turnoverının değerlendirilmesi hastalığın ilerleme şeklinin anlaşılması ve tedavi yöntemlerinin belirlenmesi açısından son derece önemlidir. Periodontitise bağlı kemik yıkımının değerlendirilmesinde DOS, serum veya salya örneklerinde ALP, OSC, tip 1 karboksiterminal propeptid gibi kemik turnover belirteç düzeylerinin değerlendirilmesi, hastalık aktivitesinin belirlenmesi açısından kullanılmaktadır (Reinhardt et al., 2004).

Periodontal dokularda osteoblastlar, fibroblastlar ve nötrofiller gibi çeşitli hücrelerde kemik turnover belirteçlerinden ALP'nin varlığı gösterilmiştir ve ALP serum seviyesinin kemik formasyonunun bir göstergesi olabileceği rapor edilmiştir (McCauley and Nohutcu 2002, Paknejad et al., 2006). Total serum ALP aktivitesinin yaklaşık olarak yarısı osteoblastlardan üretilir ve bu enzim osteoblast gelişimi sırasında matriks mineralizasyonu fazında eksprese edilir (Scariano et al., 2003). Periodontal hastalıkta ataçman kaybı artışı ile serum kemiğe spesifik ALP aktivitesinde azalma olduğu bulunmuştur. Ek olarak, ALP aktivitesinin kadınlarda erkeklere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Gibert et al., 2003). Yapılan çalışmalarda ALP düzeyinin DOS'ta serumdan daha yüksek olduğu ve periodontitis varlığının DOS ALP düzeyini arttırdığı gösterilmiştir. DOS ALP seviyesinin lokalize alanlardaki kemik değişikliklerini yansıttığı düşünülmektedir (McCauley and Nohutcu 2002).

Periodontitiste meydana gelen kemik yıkımının değerlendirilmesinde kullanılan bir diğer belirteç OSC'dir. Serum OSC seviyesi kemik yapım ve yıkımı dengede ise kemik turnoverı, dengede değilse kemik yapımını gösteren bir belirteçtir. Postmenapozal kadınlarda serum OSC konsantrasyonu ile periodontal tedavi sonuçları arasında önemli korelasyon tespit edilmiş, periodontal tedavi sonrası cep derinliğinde azalmanın daha fazla olduğu bireylerde OSC seviyesinin daha düşük olduğu gösterilmiştir (Bullon et al., 2007). Bir başka çalışmada OSC seviyesinin DOS ALP ve PGE2 seviyeleri ile pozitif yönde korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Taba et al., 2005). Tedavi edilmemiş periodontitis hastalarında DOS OSC seviyesi serumdan 200-500 kat daha fazla tespit edilmiştir (Kunimatsu et al., 1993). Bazı çalışmalarda hastalıklı alanlarda, sağlıklı alanlara oranla OSC düzeyi daha yüksek bulunurken (Nakashima et al., 1994, McCauley and Nohutcu 2002), periodontal cep olan ve olmayan alanlarda DOS OSC düzeyleri açısından bir farklılık

olmadığı da rapor edilmiştir (Lee et al., 1999). Yapılan çalışmalarda OSC'ye yönelik farklı sonuçlar elde edilmesine bağlı olarak OSC'nin periodontal hastalığın ilerlemesindeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır (Bullon et al., 2007).

2.4. Periodontal Hastalıkta Sitokinlerin Rolü

Sitokinler; immün sistemde, hematopoeziste, hücre çoğalması, aktivasyonu ve farklılaşmasında, enflamatuvar süreçte ve doku iyileşmesinde hücreler arası iletişimi sağlayan, düşük molekül ağırlıklı, çözünebilir özellikte haberci moleküllerdir (Gemmell et al., 1997, Abbas et al., 2000c, Gorska et al., 2003, Kinane 2003a). Monositlerden köken alanlar 'monokin', lenfositlerden köken alanlar 'lenfokin' ve lökositlerden köken alanlar ise 'interlökin' olarak adlandırılırlar (Abbas et al., 2000c). Sitokinler çok geniş bir protein grubu olmakla beraber, bu moleküllerin birçok ortak özelliği vardır. Bu özellikler kısaca şu şekilde özetlenebilir:

- Sitokinler doğal ve adaptif immün sistemin efektör fazında üretilirler ve bağışıklık ve enflamatuvar yanıtın oluşmasında görev alırlar. Oluşacak immün cevabın tipi sitokinlerin etki edecekleri hücrenin fonksiyonuna bağlıdır.
- Uygun ve yeterli miktarda sitokin üretimi koruyucu immün cevabın gelişimini sağlarken, aşırı miktarda sitokin üretimi yıkıcı veya ilerleyici tipte hastalık tablosunun oluşumuna neden olur.
- Kısa süreli olarak üretilirler ve sitokin üretimi kendi kendini sınırlayıcı özelliktedir.
- Depolanmazlar ve sentezlendikten sonra hızla salınırlar.
- Sitokinler birçok farklı hücre tipine etki ederler (pleotropik etki).
- Etkileri lokal ya da sistemik olabilir (otokrin, parakrin veya endokrin).
- Sitokinler genellikle diğer sitokinlerin sentez ve aktivitelerini etkilerler. Birbirleri üzerinde antagonist, agonist etkili olabilirler ya da sinerjistik etki gösterebilirler.
- Sitokinlerin etkileri hedef hücrelerdeki membran reseptörlerine bağlanmaları ile başlar.

- Sitokinlere karşı oluşan hücresel yanıt çoğunlukla yeni mRNA ve protein sentezini gerektirir.
- Eksternal sinyaller sitokin reseptörlerinin salımını düzenleyerek hücrelerin sitokin yanıtını değiştirebilirler.
- Sitokinler aynı hedef hücrede farklı birçok etki meydana getirebilirler (Gemmell et al., 1997, Abbas et al., 2000c, Kinane 2003a).

T hücreleri ve makrofajlar ana sitokin kaynağı olmakla beraber makrofaj/monosit sistemi, dendritik hücreler, lenfositler, nötrofiller, endotelial hücreler ve fibroblastlar da sitokin salımı yaparlar (Abbas et al., 2000c, Gorska et al., 2003). Bir hücrenin ortamda bulunan sitokine cevabı sitokinin lokal konsantrasyonuna, hücrenin tipine ve ortamda bulunan diğer hücre regülatör moleküllerine maruz kalmasına bağlıdır.

Sitokinler temel biyolojik aktivitelerine göre üç ana gruba ayrılırlar:

1-Doğal immüitenin düzenleyicileri ve mediyatörleri

Enfeksiyöz ajana karşı mononükleer fagositlerden üretilirler. LPS gibi bakteriyel ürünler ve viral ürünler direkt olarak makrofajları uyararak bu sitokinlerin salımına neden olurlar. Bu grupta yer alan sitokinlerin çoğu mikroorganizmalara karşı oluşan erken enflamatuvar cevapta rol alır.

2-Adaptif immüitenin düzenleyiciler ve mediyatörleri

Temel olarak T lenfositlerinden, yabancı antijenin spesifik olarak tanınmasına bağlı olarak salınırlar. Bazı T hücre sitokinlerinin temel fonksiyonu lenfositlerin farklılaşmasını ve büyümesini uyardır. Diğer T hücre kaynaklı sitokinler ise mononükleer fagosit, nötrofil, eozinofil gibi özelleşmiş hücrelerin enflamasyon alanına toplanmasında, aktivasyonunda ve regülasyonunda görev alırlar.

3-Hematopoezis stimulatörleri

Bu grupta yer alan sitokinler kemik iliği stromal hücrelerinden, lökositlerden ve diğer hücrelerden salınırlar ve immatür lökositlerin büyüme ve farklılaşmasını uyarırlar (Abbas et al., 2000c).

Özetle; doğal ve adaptif immüitenin sitokinleri farklı hücre popülasyonları tarafından üretilirler ve farklı hedef hücreler üzerine etki ederler. Yine de bu ayırım kesin değildir, uyaranlara ve reaksiyonlara bağlı olarak değişkenlik gösterir. Aynı

sitokin hem doğal hem de adaptif immün sistem hücreleri tarafından üretilebilir veya farklı sitokinler aynı reaksiyon sırasında üretilebilirler (Abbas et al., 2000c).

Enflamasyon sırasında uygun sitokin cevabının oluşması birçok hastalığın immünopatolojisinde önemli rol oynar. Bu nedenle immün sistemin belirli bir patojene karşı doğru cevabı nasıl belirlediğinin anlaşılması enfeksiyöz hastalıkların patogenezinin anlaşılması açısından son derece önemlidir (Gemmell et al., 1997).

İmmünite, hücresel ve hümorale olmak üzere iki ana tipte spesifik immün cevap oluşumuna bağlıdır. Hümorale immünite B lenfositlerini ve bu hücrelerce üretilen antikorları içerir. Ekstraselüler parazitlere ve mikroorganizmalara karşı vücudu korur (Dong and Flavell 2001). B lenfositleri antijeni doğal formunda, işlenmeden ve yüzey immünoglobülini (Ig) aracılığıyla tanırlar. Bir B lenfositi sadece tek bir antijene duyarlıdır. Antijenle karşılaştıktan sonra plazma hücreleri IgG, IgE ve IgA antikorlarını ve izotiplerini ekspres ederler (Abbas et al., 2000b). T lenfositlerinin ise yüzeylerinde Ig bulunmaz, bunun yerine antijenleri özgül olarak tanıyan T hücre reseptörüne sahiptirler. T lenfositleri sadece işlenmiş ve antijen sunan hücreler tarafından Major histocompatibility Complex ile sunulan antijeni tanıyabilirler. CD4+ ve CD8+ olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar (Abbas et al., 2000a). Hücresel immünite CD8+ sitotoksik T hücrelerini ve makrofajları içerir. Virüslerle enfekte hücrelere, intraselüler patojenlere ve malign hücrelere karşı savunmada rol alır. CD4+ T hücreleri ise bu immün cevaplar arasındaki koordinasyonun sağlanmasından sorumludurlar ve bu hücreler yardımcı T hücreleri (Th) olarak adlandırılırlar (Dong and Flavell 2001).

Hücresel ve hümorale immün cevap arasındaki denge antijen sunan hücreler ve CD4+ Th hücreleri tarafından üretilen sitokinlerce kontrol edilir. Th hücreleri sitokin profillerine göre Th1 ve Th2 olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar. Th1 immün cevabı IL-12, INF- γ , IL-1 β , IL-2, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinleri içerir ve hücresel immün cevap oluşumunu indükler. Buna karşın IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13, Th2 cevap oluşumunda rol alırlar ve B hücre büyüme ve farklılaşmasında görevli moleküllerin üretimini uyararak hümorale immünitenin oluşumunu sağlarlar. Hem Th1 hem de Th2 sitokinleri kendi T hücre alt grubunun büyüme ve farklılaşmasını uyarırlar. Aynı zamanda Th1 ve Th2 hücrelerinden üretilen sitokinler birbirleri üzerinde inhibitör

etkiye sahiptirler (O'Garra 1998, 2000, Dong and Flavell 2001, Belardelli and Ferrantini 2002, Gorska et al., 2003).

Th0, Th17 ve regülatör T hücre gibi diğer Th alt gruplarının da immün fonksiyon üzerinde regülatör rol oynadığı gösterilmiştir (Dong and Flavell 2001).

Periodontal lezyonların baskın hücre profilleri değerlendirildiğinde, bu lezyonların yoğun miktarda lenfosit ve makrofaj içerdiği, stabil lezyonlarda T lenfositlerin, progresif lezyonlarda ise B lenfositlerin ve plazma hücrelerinin baskın olduğu gösterilmiştir (Gemmell and Seymour 2004). Ayrıca kronik periodontitisli hastaların periodontal sağlıklı veya gingivitisli bireylere kıyasla periferik kan CD4:CD8 oranının daha düşük olduğu bulunmuştur. Ek olarak, periodontitisli dokularda, T hücrelerinin otolog miks lenfosit reaksiyonuna cevabının azaldığı tespit edilmiştir ve bu bulgu periodontitisli hastalarda hücrel immün cevabın baskılandığını gösterir (Gemmell et al., 1997).

Yapılan çalışmalarda periodontal hastalıkta baskın olan Th alt grubuna yönelik farklı sonuçlar mevcuttur. Hayvan çalışmalarında ve klinik çalışmalarda enfekte periodontal dokularda, Th1, Th2 ve regülatör T hücrelerinin sıklıkla bir arada bulunduğu tespit edilmiştir; ancak periodontal doku ve alveoler kemik yıkımındaki aktif enflamatuvar cevabın düzenlenmesinde Th1 hücrelerinin ve bu hücrelerce üretilen sitokinlerin rol oynadığı düşünülmektedir (Kawai et al., 2000, Taubman and Kawai 2001, Liu et al., 2010). Enflamasyon dokularında Th1 sitokinleri olan IL-2 ve INF- γ 'nın izole edilmesi, buna karşın Th2 sitokinleri olan IL-4 ve IL-5'e rastlanılmaması periodontal hastalıkta baskın Th alt grubunun Th1 olduğunu destekler niteliktedir (Gemmell et al., 2002). Yine bir başka araştırmada periodontitis hastalarında, DOS'ta Th1 sitokinleri olan PGE2, IL-1 β , TNF- α , INF- γ ve IL-2 düzeyleri daha yüksek tespit edilmiştir (Salvi et al., 1998). Bu nedenle kronik periodontitiste genel kanı CD4+ T hücrelerinde Th1 yönünde bir dengesizlik olduğu yönündedir. Th2 cevabının ise periodontitis patogeneğinde koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir (Taubman and Kawai 2001, Stashenko et al., 2007, Pradeep et al., 2008, Liu et al., 2010). Ayrıca her iki Th alt grubuna ait sitokinlerin gingival dokulardaki lenfositler tarafından üretilmesine rağmen, Th1 sitokinlerinin periodontitisli alanlarda daha yüksek miktarlarda bulunduğu tespit edilmiştir (Takeichi et al., 2000, Pathirana et al., 2010).

Yapılan çalışmaların bir kısmında ise periodontal hastalık varlığında Th1 cevabının azaldığı, Th2 cevabının arttığı rapor edilmiştir (Gemmell et al., 2002). Periodontitisli hastaların periferik kan mononükleer hücreleri mitojenle uyarıldığında INF- γ sekresyonunun ve INF- γ ve IL-2 mRNA sentezinin azaldığı gösterilmiştir (Sigusch et al., 1998). Bir başka çalışmada da periodontitisli bireylerin periferik kan hafıza T hücrelerinin *P.gingivalis* ile stimüle edilmesi sonucu yüksek miktarda IL-4 üretimi olduğu rapor edilmiştir. Aynı çalışmada sağlıklı gingival dokulara sahip bireylerde IL-4 üreten hafıza T hücrelerine rastlanmadığı bildirilmiştir (Aoyagi et al., 1995). Bu bulgular şiddetli periodontal hastalıkta baskın Th hücre tipinin Th2 olduğunu düşündürmektedir. (Gemmell et al., 2002, Seymour et al., 2007, Pathirana et al., 2010). Bir başka çalışmada ise periodontal hastalıklı alanlardan izole edilen T lenfositlerinin INF- γ , IL-6 ve IL-13 ürettiği, ancak IL-2, IL-4 ve IL-5 üretimi yapmadığı tespit edilmiş ve sitokin salımının Th1 ve Th2 hücre profiline bağlı olarak meydana geldiği sonucuna varılmıştır (Fujihashi et al., 1996).

Yakın dönem çalışmalarda kronik periodontitisli bireylerden alınan biyopsi örneklerinde TGF- β ve CD4+CD25+ regülatör T hücrelerinin varlığı tespit edilmiştir (Nakajima et al., 2005). Ayrıca kronik periodontitisli bireylerde enflamasyon alanında IL-17, TGF- β , IL-23 gibi sitokinlerin yüksek miktarlarda bulunduğu ve periodontal hastalıkta Th17 hücrelerinin de rol oynadığı gösterilmiş ve periodontal hastalık patogenezinin Th1 ve Th2 hücrelerinin yanı sıra diğer CD4 T hücre alt gruplarının da katıldığı rapor edilmiştir (Houry-Haddad et al., 2007, Cardoso et al., 2009).

Periodontopatojen bakteriye ve virülans faktörlerine karşı oluşacak immün cevabın kronik periodontitis patogenezinin ana belirleyicisi olduğu düşünülmektedir (Pathirana et al., 2010).

Sağlıklı bireylere kıyasla kronik periodontitisi olan hastaların DOS, serum ve gingival doku örneklerinde RANKL; IL-1, IL-6 gibi proenflamatuvar sitokin; IL-8, monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1), makrofaj enflamatuvar protein-1 α gibi kemokin; ICAM-1 gibi adezyon moleküllerinin miktarlarının önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir (Hanazawa et al., 1993, Gorska et al., 2003, Dixon et al., 2004, Orozco et al., 2006, Nagasawa et al., 2007, Pradeep et al., 2009a, Pathirana et al., 2010). Subgingival biofilmdeki periodontopatojen bakteriye cevaben bu katabolik

sitokinlerin ve diğ er enflamatuvar mediyatörlerin aktif salımının kronik periodontitisteki kemik rezorpsiyonundan ve bağ doku kaybından sorumlu olduğ una inanılmaktadır (Pathirana et al., 2010).

2.4.1.Tümör nekroz faktör (TNF)

Gram (-) bakteri ve diğ er enfeksiyöz mikroorganizmalara karşı oluş an akut enflamatuvar cevabın temel mediyatörüdür ve ş iddetli enfeksiyonlarda meydana gelen sistemik komplikasyonların çoğ undan sorumludur. α ve β olmak üzere iki formu bulunur (Abbas et al., 2000c). TNF'nin ana hücresele kaynağı aktive mononükleer fagositlerdir. Bu hücrelerin yanı sıra antijenle stimüle olmuş T hücrelerinden, doğ al öldürücü hücrelerden ve mast hücrelerinden de salınır (Abbas et al., 2000c, Blach et al., 2009, Liu et al., 2010). Makrofajlardan TNF salımı için en güçlü uyarıcının LPS olduğ u tespit edilmiştir. Ayrıca T hücreleri ve doğ al öldürücü hücreler tarafından üretilen INF- γ , LPS ile stimüle olmuş makrofajlardan TNF salımını artırır.

TNF'nin temel fonksiyonu nötrofillerin ve monositlerin enfeksiyon alanına toplanmasını uyarmaktır (Taylor 2010). Bu etkisini vasküler endotelial hücrelerin ve lökositlerin fonksiyonlarını etkileyerek gerçekleştirir. TNF, vasküler endotelial hücrelerden adezyon moleküllerinin salımına neden olarak öncelikle nötrofillerin ve sonrasında monosit ve lenfositlerin endotel yüzeyine yapışmasını sağlar. Ayrıca endotelial hücrelerden ve makrofajlardan kemokin salımına neden olur. Dolayısıyla lökosit kemotaksisini ve enfeksiyon alanına toplanmasını uyarır (Abbas et al., 2000c). Ek olarak osteoklast prekürsör hücrelerinin farklılaşmasını uyararak kemik yıkımına neden olur (Tracey and Cerami 1994, Blach et al., 2009, Pathirana et al., 2010). Mononükleer fagositler üzerine etki ederek IL-1 sekresyonunu artırır. Enflamasyondaki rolüne ek olarak fibroblastların apoptozisini indükler ve bu yolla doku tamirini sınırlar (Taylor 2010).

Ş iddetli enfeksiyonlarda yüksek oranda TNF üretimi, sistemik düzeyde klinik ve patolojik düzensizliklerin gelişmesine neden olur. Eğer üretimine neden olan uyarı

çok güçlü ise TNF kan dolaşımına geçer ve bir endokrin hormon gibi fonksiyon gösterir (Abbas et al., 2000c).

2.4.2.İnterlökin-1 (IL-1)

İnterlökin-1, enflamatuvar cevabın temel mediyatörüdür, makrofajlar, endotelial hücreler, B hücreleri, fibroblastlar, epitel hücreleri ve osteoblastlar gibi farklı hücre tipleri tarafından üretilir ve birçok hücre tipi üzerine etki eder (Delaleu and Bickel 2004). Mikroorganizmalara, bakteriyel toksinlere, kompleman komponentlerine veya doku hasarına cevaben salınır. IL-1 kendi üretimini düzenleyen/baskılayan sitokin ağının bir parçasıdır ve en önemli fonksiyonlarından birisi diğer sitokinlerin üretimini indüklemesidir (Gemmell et al., 1997). TNF ile birlikte doğal immünitede ve enflamasyonda fonksiyon gösterir (Abbas et al., 2000c).

IL-1'in farklı genlerle kodlanan α ve β olmak üzere iki formu tanımlanmıştır. IL-1 β daha etkin olmakla birlikte her iki formda proenflamatuvar aktiviteye sahiptir (Delaleu and Bickel 2004, Liu et al., 2010). IL-1 β , IL-1 α 'ya göre 10-50 kat daha fazla üretilir. T lenfositlerinin stimülasyonu ve lenfokin üretimi, B lenfositlerinin çoğalmasının indüklenmesi ve antikor üretimi, fibroblast çoğalmasının indüklenmesi, monositlerden ve fibroblastlardan PGE2 salımının uyarılması, MMP'lerin salımının indüklenmesi, osteoklast formasyonunun stimülasyonu ve kemik rezorpsiyonu IL-1 β 'nın fonksiyonları arasındadır. Ek olarak, IL-1 β 'nın nötrofil kemotaksisini aktive ettiği ve endotelial hücre fonksiyonunu etkilediği gösterilmiştir (Delaleu and Bickel 2004, Goutoudi et al., 2004, Taylor 2010). Bununla birlikte, IL-1 β düşük konsantrasyonda lokal enflamasyonun bir mediyatörü olarak fonksiyon göstermesine rağmen, yüksek konsantrasyonda kan dolaşımına geçerek endokrin aktivite sergiler. Ateş, karaciğerden akut faz plazma proteinlerinin sentezinin indüklenmesi gibi sistemik reaksiyonlara neden olur (Abbas et al., 2000c, Orozco et al., 2006).

Mononükleer fagositler IL-1'in doğal inhibitörü olan IL-1 reseptör antagonisti (IL-1ra) üretirler. IL-1ra yapısal olarak IL-1'e benzer ve aynı reseptöre bağlanır. IL-1

aktivitesinin endojen düzenleyicisidir ve IL-1 üretimini inhibe edici fonksiyon gösterir (Abbas et al., 2000c).

IL-1 α/β ve TNF- α kronik periodontal hastalıkta, doku yıkımının başlamasından ve kemik kaybından sorumludurlar (Gemmell et al., 1997). IL-1; keratinositlerin, fibroblastların ve endotelial hücrelerin çoğalmasını indükler ve fibroblastlardan tip 1 kolajen, hyaluronat, fibronektin ve PGE2 sentezini artırır. Bu nedenle periodontal doku homeostazisi için önemli bir sitokindir. Ancak periodontal hastalık varlığında üretiminin artması doku yıkımına neden olur (Nakamura and Jimi 2006, Liu et al., 2010). Yapılan çalışmalarda IL-1 α/β ve TNF- α 'nın osteoklast prekürsörlerinin farklılaşmasını ve takiben osteoklastların aktivasyonunu stimüle ederek kemik rezorpsiyonunu indüklediği gösterilmiştir. Kemik rezorpsiyonundaki rolüne ek olarak, hem IL-1 hem de TNF- α monosit ve fibroblastlardan PGE2 salımını ve MMP'lerin salımını uyararak doku yıkımına da katılırlar (Beklen et al., 2007, Liu et al., 2010, Pathirana et al., 2010).

Hayvan çalışmalarında IL-1 ve TNF- α aktivitesinin çözünebilir reseptörlerinin lokal enjeksiyonu ile bloke edilebildiği ve enflamatuvar hücrelerin inhibe olduğu tespit edilmiştir. Buna göre hastalık aktivitesinin en azından bir kısmının IL-1 ve/veya TNF- α bağımlı olduğu sonucuna varılmıştır (Gemmell et al., 2002).

Kronik periodontitisli hastaların DOS TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin periodontal sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Gemmell and Seymour 2004, Yucel et al., 2008). Ek olarak, şiddetli periodontitis varlığında gingival keratinositlerden IL-1, IL-6 ve IL-8 üretiminin hücre adezyon moleküllerinin salımını ve dolayısıyla PMNL'lerin gingival sulkusa geçişini arttırdığı gösterilmiştir (Suchett-Kaye et al., 1998).

Yapılan çalışmalarda periodontitisli hastaların sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek serum TNF- α ve IL-1 β düzeylerine sahip oldukları tespit edilmiştir (Gorska et al., 2003). Yaşlılarda yapılan bir kohort çalışmada dolaşımdaki TNF- α seviyesinin şiddetli periodontitisle ilişkili olduğu bulunmuştur (Bretz et al., 2005). Tip 2 diyabeti olan hastalarda kronik periodontitisin plazma TNF- α düzeyinin artışıyla ilişkili olduğu ve bu yolla insülin direnci gelişimine neden olabileceği gösterilmiştir. Aynı çalışmada ataçman kaybının ve plazma endotoksin düzeyinin artmış plazma TNF- α seviyesi için bağımsız birer değişken olduğu tespit edilmiştir (Engebretson et al.,

2007). Bu bulgular kronik enflamatuvar bir hastalık olan periodontitisin serum enflamatuvar sitokin seviyelerinin artışına da katkıda bulunduğunu göstermektedir (Chen et al., 2008b).

2.5. Ghrelin Hormonu

Ghrelin, ilk kez 1999 yılında Kojima ve arkadaşları tarafından keşfedilmiştir. Büyüme hormonu salgılatıcı hormon reseptörüne (BHS-R1a) bağlanmış endojen bir ligand olarak tanımlanan, peptid yapıda bir hormondur. Ghrelin adı, Proto-Indo European kaynaklı 'ghre' ile 'relin' kelimelerinin birleşmesinden türetilmiştir ve 'ghre' büyüme, 'relin' ise büyüme hormonu salgılatıcı anlamında kullanılmıştır (Kojima et al., 1999).

Ghrelin esas olarak mide mukozasının X/A benzeri hücrelerinden üretilir (Kojima et al., 1999). Midenin yanı sıra hipotalamus, hipofiz, tükürük bezi, tiroid bezi, ince barsak, böbrekler, kalp, santral sinir sistemi, akciğer, plasenta, gonadlar (Horvath et al., 2001), immün sistem (özellikle T hücreleri, B hücreleri ve nötrofiller) (Hattori et al., 2001), pankreasın alfa, beta ve epsilon hücreleri, meme ve dişlerde de sentezlenmektedir (Kojima et al., 1999). Hormona özgü mRNA hemen hemen tüm dokularda tespit edilmiştir (Gnanapavan et al., 2002, van der Lely et al., 2004, Ueberberg et al., 2009).

2.5.1 Ghrelinin Yapısı

Ghrelin, 117 aminoasitten oluşan preproghrelinin yıkım ürünüdür (Kojima et al., 1999). Preproghrelin 23 aminoasit sinyal peptid ve 94 aminoasit proghrelininden meydana gelir. Proghrelin ise 28 aminoasit matür ghrelin ve 66 aminoasit kuyruk peptid içerir (Bednarek et al., 2000). Salınmadan önce post translasyonel modifikasyona uğrar, 28 aminoasitten üçüncü serin aminoasitine n-oktanoik asit (yağ asidi) bağlanır ve açıl ghrelin oluşur (Kojima et al., 1999).

Ghrelinin aminoasit uzunluğuna göre iki gruba [ghrelin (1-28) ve ghrelin (1-27)] ve Ser3'teki açılasyonun tipine göre dört gruba [açillenmemiş, oktanoillenmiş, dekanooillenmiş ve muhtemel dekenooillenmiş] ayrılmıştır. Majör aktif formu Ser3'te n-oktanoil modifikasyonu ile birlikte 28 aminoasit içeren ghrelin olmasına rağmen, dekanooil ghrelin (1-28), dekenooil ghrelin (1-28), oktanoil ghrelin (1-27) ve dekanooil ghrelin (1-27) molekülleri de insanda plazmada ve midede tespit edilmiştir (Hosoda et al., 2003). Yapılan çalışmalar farklı açıl modifikasyonlarının ghrelinin biyolojik aktivite gücünü etkilediğini göstermektedir (Nishi et al., 2005).

Ghrelinin biyolojik aktif analogunun 10 veya 11 C açıl-zinciri içeren daha az miktarlarda olduğu tespit edilmiştir (Hosoda et al., 2003). Tam uzunlukta (28 aminoasit) veya 27 aminoasit içeren bu peptidlerin, BHS-R1a salımı yapan hücrelerden kalsiyum mobilize edici aktivitesinin, açıl ghreline göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Hosoda et al., 2003). Ghrelinin ilk 4 veya 5 kalıntısının hücrelerden kalsiyum mobilizasyonu için yeterli olduğu gösterilmiştir (Kojima et al., 1999, Hosoda et al., 2000). Reseptör aktivasyonu için gerekli olan aktif kor sırası Gly-Ser-Ser (n-oktanol)-Phe olarak tanımlanmıştır (Torsello et al., 2002).

İnsan ghrelin geni kromozom 3p25-26 üzerinde, reseptör geni ise 3. kromozomda pozisyon q26-27'de lokalizedir (Smith et al., 1997).

2.5.2. Açıl ve Desaçıl Ghrelin

Ghrelin oktanil grubunun olup olmamasına göre biyolojik olarak aktif ve inaktif olmak üzere ikiye ayrılır. Oktanil içeren ghrelin biyoaktif (açillenmiş) ghrelindir. Bu açılasyon ghrelinin BHS-R1a'ya bağlanması ve büyüme hormonu (BH) salımını uyarması için gereklidir (Kojima et al., 1999, Bednarek et al., 2000). Ghrelin geninin farklı bir yoldan parçalanması sonucu ikinci bir biyolojik aktif molekül, Des-Gln14-ghrelin, meydana gelir. Des-Gln14-ghrelinin ghrelinle aynı biyolojik aktiviteye sahip olduğu düşünülmektedir (Hosoda et al., 2000).

Desaçıl ghrelin (oktanil içermeyen ghrelin) pozisyon 14'te glutamin kaybı olan 27 aminoasitten oluşur (Hosoda et al., 2000). Desaçıl ghrelinin serumda açıl ghreline göre daha yüksek oranda bulunmasına karşın, herhangi bir endokrin fonksiyonunun

olmadığı gösterilmiştir. Yine de kardiyovasküler ve antiproliferatif etkiler gibi endokrin olmayan aktivite gösterdiği ve bu etkilerini de farklı BHS-R alt tipleri veya reseptör ailesi aracılığı ile yapıyor olabileceği düşünülmektedir (Bednarek et al., 2000, Date et al., 2000).

Açıl ve desaçil ghrelin arasındaki ilişki tam olarak anlaşılammıştır. Her iki formda plazmada ve midede bulunur. Her iki formunda aktif olduğu, benzer ve karşıt fonksiyonlar sergilediği gösterilmiştir. Bu konuda iki teori gündeme gelmiştir: (1) desaçil ghrelin, açilasyonun tam anlamıyla gerçekleşmemesi sonucu oluşur ve her iki formu da iki ayrı regülatör yol aracılığıyla salgılanır. (2) desaçil ghrelin, ghrelin molekülünün deaçilasyonu sonucu oluşur. Birinci teoriye göre desaçil ghrelin direkt olarak ghrelin geninden üretilen aktif bir moleküldür. İkinci teoriye göre ise ghrelinin deaçilasyonu sonucu meydana gelir. Bu teoriye göre çeşitli enzimler bu deaçilasyondan sorumludur. Ghrelinin serumda butirikolinesteraz ve karboksilesteraz enzimleri aracılığıyla deaçillendiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte desaçil ghrelinin de sindirilmiş orta-zincirli yağ asitleri aracılığıyla *in vivo* olarak açillenebildiği ve böylece dolaşımdaki açıl ve desaçil ghrelin seviyeleri arasındaki dengenin devam ettirildiği gösterilmiştir (Nishi et al., 2005).

Ghrelinin deaçilasyonunun dolaşımdayken olması nedeniyle kan örneklerinin toplanması sırasında EDTA içeren kan tüplerinin kullanılması, aprotinin gibi esteraz inhibitörlerinin ilave edilmesi, santrifüj edildikten sonra asidifiye edilmesi ve -70°C saklanması açıl ghrelinin stabilizasyonu açısından gereklidir (Hosoda et al., 2004).

Ghrelinin plazmadaki konsantrasyonu 100 pmol/litredir. Desaçil ghrelinin açıl ghreline oranı 2.5/1'dir (Broglia et al., 2004). Açıl ghrelinin *in vivo* yarı ömrü kısadır (~9-13 dakika), total ghrelinin ise yarı ömrü yaklaşık 27-31 dakika arasındadır (Akamizu et al., 2004). Desaçil ghrelin dolaşımda serbest peptid şeklinde bulunurken, açıl ghrelinin büyük bir kısmı lipoproteinler gibi büyük moleküllere bağlı olarak bulunur (De Vriese et al., 2007). Sindirilmiş orta-zincirli yağ asitleri ve orta-zincirli trigliserit (TRG)'ler ghrelinin açıl modifikasyonunda görevli yağ asitlerinin kaynağını oluştururlar. Orta zincirli yağ asitlerinin veya TRG'lerin sindirilmesi ile açıl grubu içeren ghrelinin midedeki konsantrasyonu yükselir. Ancak bu yağ asitlerinin sindirilmesinin total ghrelin üzerine etkisinin olmadığı bulunmuştur (Nishi et al., 2005) Ghrelinin trigliseritten zengin lipoprotein, yüksek

densiteli lipoprotein (HDL), çok yüksek densiteli lipoprotein ve bazı düşük densiteli lipoproteine (LDL) bağlandığı gösterilmiştir (De Vriese et al., 2007).

Desaçil ghrelin, ghrelinin karaciğer veya pankreastaki metabolik etkisini modüle edebilir. Bu etkisini direkt olarak ghrelin ve desaçil ghrelinin paylaştığı reseptör üzerinden veya indirekt olarak desaçil ghreline spesifik reseptör aracılığıyla gerçekleştirir. Desaçil ghrelin, konsantrasyona bağlı olarak ghrelin aktivitesini güçlendirebilir veya BHS-R'ye antagonist etki göstererek ghrelin cevabını bloke edebilir (Gauna et al., 2007). Yapılan çalışmalarında ghrelin uygulamasının hiperglisemi, hipoinsülinemi, dolaşımdaki serbest yağ asitlerinin artması ve insülin sensitivitesinin kötüleşmesi gibi durumlara yol açtığı, fakat desaçil ghrelinle birlikte uygulanmasıyla bu etkilerinin önlenildiği veya geri dönüştürülebildiği bulunmuştur. Bu etkilerin ghrelinin metabolik aktivitesine spesifik olduğu düşünülmektedir, çünkü desaçil ghrelin BH, prolaktin veya adrenokortikotropin hormonunun (ACTH) açil ghreline cevabı üzerine etki etmez. Ancak açil ghrelinin insülin sekresyonu ve glikoz seviyesi üzerine etkisini antagonize edebilir (Broglio et al., 2004).

2.5.3. Ghrelin Reseptörü

BHS reseptör geni kromozom 3q26.2 üzerinde yer alır ve 1a tam uzunluktaki reseptörü (BHS-R1a) ve 1b daha kısa versiyonu (BHS-R1b) olmak üzere iki izoformu kodlar (McKee et al., 1997a). Ghrelin hormonunun BHS-R1a tipi reseptöre bağlandığı gösterilmiştir (McKee et al., 1997b). BHS-R1b, BHS-R1a'ya benzer şekilde yaygın olarak üretilir, ancak BHS-R1a'dan farklı olarak ghreline bağlanmaz ve fizyolojik önemi henüz bilinmemektedir (Gnanapavan et al., 2002).

Ghrelin hormonunun bulunmasından önce BHS-R1a güçlü BH salgılatıcı aktiviteye sahip G protein ailesine ait spesifik bir reseptör olarak tanımlanmıştır ve bu nedenle Büyüme Hormonu Salgılatıcı (BHS) olarak adlandırılmıştır (McKee et al., 1997b).

Hipofiz bezinde ve çeşitli endokrin ve non-endokrin dokularda (Gnanapavan et al., 2002), ayrıca santral sinir sisteminde önemli miktarda BHS-R1a mRNA

salımının gerçekleştiği gösterilmiştir (Zigman et al., 2006). Ghrelin reseptör transkript ürünlerinin mide, bağırsak, pankreas, tiroid, adrenal bez, gonadlar, kalp, vasküler sistem ve kemik gibi birçok periferal organda bulunması geniş bir ghrelin aktivitesinin varlığını göstermektedir (Gnanapavan et al., 2002, Leite-Moreira and Soares 2007).

BHS-R mRNA'sının çeşitli lenfoid organlardan (Gnanapavan et al., 2002) ve T hücresi, B hücresi ve monositler gibi lökosit alt tiplerinden sentezlenmesi BHS-R'nin immün sistemin kontrolünde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Hattori et al., 2001).

Santral yerleşimli BHS-R1a'nın ghrelinin gastrik asit sekresyonu üzerindeki aktivitesini düzenlediği (Sibilia et al., 2006), periferal BHS-R1a'nın ise ghrelinin pankreatik insülin sekresyonu üzerine inhibitör etkisinden (Dezaki et al., 2006), oksidatif strese karşı koruyucu rolünden (Suematsu et al., 2005, Kawczynska-Drozd et al., 2006) ve BHS'nin proenflamatuvar ve immün cevabı düzenlemesinden sorumlu olduğu bulunmuştur (Koo et al., 2001, Dixit et al., 2004, Dixit and Taub 2005).

BHS-R1a aktivasyonu için Ser3'te açılasyon gereklidir. Tüm açıl modifiye ghrelin analoglarının BHS-R üreten hücrelerde kalsiyum konsantrasyonunu aynı miktarda arttırdığı ve BH salımını stimüle ettiği gösterilmiştir (Hosoda et al., 2003).

2.5.4. Ghrelinin Dokularda Dağılımı

İlk olarak mideden izole edilmiş olmasına rağmen (Kojima et al., 1999) en yüksek oranda gastrik fundus olmakla birlikte mideden kolona kadar tüm gastrointestinal yolda ghrelin immünoreaktivitesi gösterilmiştir. Kromogranin A-immünoreaktif endokrin hücrelerin yaklaşık %20'sinde ghrelin mRNA'sı tespit edilmiştir (Date et al., 2000). Ghrelin üreten bu hücreler daha önceden X/A benzeri hücreler olarak tanımlanan hücrelere eşdeğerdir. Ghrelin fundusta oksinrik bezde (midenin asit üreten kısmında) ve lümenin ziyade kapiller alana yakın komşulukta tespit edilmiştir ki, bu da ghrelinin tüm vücudu dolaştığını gösterir (Ariyasu et al., 2001, Korbonits et al., 2004). Midenin asit üreten kısmının cerrahi olarak

uzaklaştırılması sonucu dolaşımdaki ghrelin konsantrasyonunun %80 oranında azaldığının tespit edilmesi oksinrik mukozanın ghrelinin majör kaynağı olduğunu kanıtlamaktadır (Dornonville de la Cour et al., 2001). Yine de total gastrektomi sonrası ghrelinin dereceli olarak yeniden artış göstermesi, diğer dokuların da ghrelin üretimindeki azalmayı kompanse edebildiğini gösterir (Hosoda et al., 2003).

Midede desaçil/ açıl ghrelin oranının yaklaşık olarak 2/1 olduğu bulunmuştur (Hosoda et al., 2003). Ghrelinin yarı ömrünün desaçil ghrelinden kısa olması, ayrıca plazma ghrelininin sistemik dokularda BHS reseptörlerine bağlanarak ortamdan uzaklaştırılması, dolaşımdaki miktarının desaçil ghreline göre daha az olmasına neden olabilir (Soares and Leite-Moreira 2008).

Pankreas bir diğer ghrelin üreten organdır. Hem ghrelinin hem de desaçil ghrelinin rat pankreaslarında üretildiği tespit edilmiştir (Date et al., 2002).

Ghrelin hipotalamusun arkus nükleusunda, açlık kontrolünün önemli bir alanında, tespit edilmiştir (Kojima et al., 1999, Lu et al., 2002). Ghrelinin bu lokalizasyonu yemek alımının kontrolünde rol oynadığı fikrini akla getirmektedir (Kojima and Kangawa 2005).

Hipofiz bezinde de ghrelin varlığı gösterilmiştir ve hipofiz bezinde otokrin veya parakrin yolla BH salımını etkilediği düşünülmektedir (Kojima and Kangawa 2005).

Böbrekte özellikle glomerüler alanda ghrelin mRNA'sı tespit edilmiştir (Gnanapavan et al., 2002). Plazma ghrelin konsantrasyonu serum kreatin seviyesi ile korelasyon gösterir ve son dönem böbrek hastalığı olanlarda normal renal fonksiyonu olan bireylere göre ghrelin konsantrasyonu 2,8 kat daha yüksek tespit edilmiştir (Yoshimoto et al., 2002). Bu sonuçlar böbreklerin ghrelinin yıkımında ve ortamdan uzaklaştırılmasında önemli rol oynadığını göstermektedir (Kojima and Kangawa 2005).

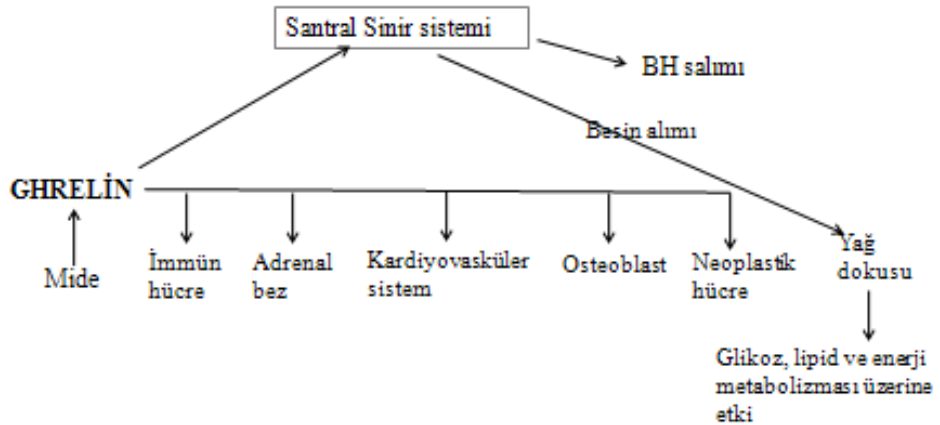
Kalp ventriküllerinde ghrelinin varlığı bu hormonun kardiyovasküler sistem üzerine etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir. Miyokard enfarktüsü geçirmiş ratlarda yapılan bir çalışmada ghrelin uygulamasının kalp hemodinamik parametrelerini iyileştirdiği ve ventriküler remodelingi inhibe ettiği gösterilmiştir. (Huang et al., 2009).

Kondrositlerde de ghrelin sentezinin ve sekresyonunun olduğu gösterilmiştir. Eksprese edilen ghrelinin büyük bir kısmı çoğalma ve maturasyon zonlarında tespit edilmiştir. Ayrıca ghrelin immünoaktivitesinin sitoplazmada lokalize olduğu bulunmuştur. Kondrositlerden üretilen ghrelinin, otokrin ve/veya parakrin yolla osteogenezisi aktive eden çeşitli faktörlerin sentezini stimüle edebileceği veya kartilajda eikosanoid biyosentezini uyarabileceği düşünülmektedir (Caminos et al., 2005).

Ghrelinin plasenta, yumurtalıklar, testisler, akciğerler ve immün sistem hücrelerinden de sentezlendiği gösterilmiştir (Hattori 2009). Ayrıca tükürük bezinde ve diş dokusunda da ghrelin varlığı bildirilmiştir (Aydın et al., 2005, Aydın et al., 2007).

2.5.5. Ghrelinin Fizyolojik Fonksiyonları

Ghrelinin ilk olarak BH salımının uyarılmasında fonksiyon gösterdiğinin bulunmasına rağmen, yapılan çalışmalar yemek alımının kontrolü, enerji metabolizması, kardiyovasküler fonksiyon, lenfosit gelişiminin ve sitokin üretiminin düzenlenmesi gibi çok geniş bir fonksiyon alanının olduğunu göstermektedir (Dixit et al., 2004, Kojima and Kangawa 2005, Xu et al., 2008) (Şekil 2).



Şekil 2: Ghrelinin aktivite gösterdiği doku ve organlar

1.BH Salgılatıcı Aktivitesi

Ghrelın güçlü, doza ve BHS-R1a'ya bağımlı BH salgılatıcı aktiviteye sahiptir (Kojima et al., 1999, Takaya et al., 2000). Birçok çalışmada ghrelinin BH zerine etkisinin ghrelinin uygulama şekline bağlı olduğu bulunmuştur. Yedi günlük ve aralıklı ghrelın enjeksiyonu BH sekresyonunda artışa neden olurken, devamlı ghrelın infüzyonunun BH sekresyonunu baskıladığı rapor edilmiştir (Wells and Houston 2001, Thompson et al., 2003).

2. ACTH salgılatıcı aktivitesi

Hem açıl ghrelinin hem de sentetik BHS'lerin hipofiz bezindeki tek aktivitesi BH salgılatılması değildir. Aynı zamanda laktotropik ve kortikotropik sistemler üzerine de stimüle edici etkileri vardır (Ghigo et al., 2001). BHS'lerin ACTH salgılatıcı etkisi akutdur, tedavi sresinin uzamasına bağlı olarak artış gösterir, cinsiyetten bağımsızdır, ancak yaşla ilişkili varyasyonlar gözlenebilir (Ghigo et al., 2001). Puberte döneminde artar, erişkinliğe doğru azalır ve yaşlanmayla beraber artma eğilimi gösterir (Broglıo et al., 2003).

3.Beslenme zerine etkisi

Açlık beyin tarafından kontrol edilir ve beslenme davranışı, özellikle hipotalamus olmak üzere, santral sinir sisteminde kompleks mekanizmalar aracılığıyla düzenlenir. (Kojima and Kangawa 2005). Yakın dönem çalışmalarda, açlığı düzenleyen hümoral faktörlerin tanımlanmasından sonra, bu düzenleyici mekanizmaların sadece santral sinir sisteminde olmadığı, aynı zamanda periferel dokulardan salgılanan faktörler aracılığıyla da düzenlendiği bulunmuştur (Neary et al., 2004, Kojima and Kangawa 2005). Örneğin adipoz dokulardan üretilen leptin açlığı baskılayan bir faktördür ve beyine tokluk sinyalinin iletilmesine neden olur. Periferel dokularda açlıkla ilgili sinyaller ise ancak ghrelinin bulunmasıyla açıklık kazanmıştır (Kojima and Kangawa 2005).

İmmünohistokimyasal çalışmalarda ghrelın içeren hücrelerin hipotalamusta, açlığın kontrol edildiği bölgede olduğu gösterilmiştir (Kojima et al., 1999). Bu lokalizasyonu, ghrelinin yiyecek alımının kontrolünde rol oynadığını düşündürmektedir (Kojima and Kangawa 2005).

4.Vagal etkileri

Yapılan çalışmalarda vagal efferent nöronlarda ghrelin reseptörlerinin sentezlendiği bulunmuştur. Bu bulguya göre ghrelinin mideden beyine vagus siniri aracılığıyla taşındığı düşünülmektedir. Vagatomi ile ghrelinin yiyecek alımını ve BH salımını arttırıcı etkisinin engellenebildiği bulunmuştur. Bu sonuçlar ghrelinin vagus sistemini aktive edebildiğini kanıtlar niteliktedir (Kojima and Kangawa 2005).

5.Hücre farklılaşması üzerine etkisi

Yapılan çalışmalar ghrelinin hücre çoğalması ve farklılaşması üzerine etki edebileceğine dikkat çekmektedir. Hücrenin tipine bağlı olarak, ghrelin hücre büyümesini uyarabileceği gibi inhibe de edebilir (Xu et al., 2008). Ghrelinin proosteoblastlar (Kim et al., 2005, Maccarinelli et al., 2005), nöronal prekürsörler (Sato et al., 2006), preadipositler (Zhang et al., 2004) ve kardiyomiyositler (Pettersson et al., 2002) üzerine mitotik etkisinin olduğu gösterilmiştir. Osteoblastlar, adipositler ve miyositler aynı prekürsör hücrelerden yani mezenşimal kök hücrelerden köken aldığından, ghrelinin bu hücrelerin kök hücrelerinden farklılaşma aşamasına etki ettiği düşünülmektedir. Gelişim sırasında, ghrelin osteoblastogenezisi ve miyelogenezisi aktive edici, adipogenezisi ise baskılayıcı bir fonksiyon gösterebilir (Xu et al., 2008).

6.Kardiyovasküler aktivitesi

Yakın dönem çalışmalar kardiyovasküler dokuların yüksek miktarlarda ghrelin reseptörü içerdiğini rapor etmektedir. İnsan miyokard hücrelerinde ve rat ventrikül, aort, koroner arterler, karotis ve endokardiyumunda ghrelin mRNA üretimi gösterilmiştir (Li et al., 2006). Ayrıca aterosklerotik damarlarda ghrelin reseptör yoğunluğunun arttığı bulunmuştur (van der Lely et al., 2004). Bu sonuçlar kardiyovasküler sistemin ghrelin için hedef dokulardan birisi olduğunu doğrular niteliktedir (Li et al., 2006).

Ghrelin kardiyovasküler dokularda, dolaşım homeostazının sağlanmasında önemli otokrin/parakrin fonksiyonlara sahiptir. Miyokard kontraktilesinin arttırılması, vazodilatasyon ve enflamasyonun önlenmesi gibi etkileri vardır (Papotti et al., 2000, Li et al., 2006). Ghrelinin intravenöz enjeksiyonunun doza bağlı olarak arteriyal basıncı ve kalp atım hızını azaltması, bu hormonun vazorelaktif bir faktör olduğunu göstermektedir (Shimizu et al., 2003, Li et al., 2006).

Ghrelinin ayrıca endotelial fonksiyon üzerine yararlı etkileri vardır. Tekrar eden ghrelin enjeksiyonu BH'dan bağımsız mekanizmalar aracılığıyla endotelial disfonksiyonu iyileştirir ve endotelial nitrik oksit sentaz salımını ve NO üretimini artırır. Bu nedenle aterosklerozun önlenmesinde etkili bir terapötik ajan olabilir (Shimizu et al., 2003). Ghrelinin vasküler endotelial hücrelerde bazal ve TNF- α ile indüklenmiş kemotaktik sitokin üretimini ve mononükleer hücre adezyonunu baskıladığı da gösterilmiştir (Li et al., 2004).

7.Otonom sinir sistemi üzerine etkileri

Ghrelin sempatik aktiviteyi inhibe eder, vazodilatasyona neden olur ve kan basıncını azaltır. Ayrıca ghrelinin kardiyovasküler sempatik aktivite üzerine inhibitör etkisinin olduğu gösterilmiştir (Korbonits et al., 2004). Gastrointestinal sistem üzerine ise parasempatik aktiviteyi stimüle edici etkisi vardır ve bu şekilde gastrik asit sekresyonunu ve gastrik hareketliliği artırır (Masuda et al., 2000).

8.Gastrointestinal sistem üzerine etkileri

Ghrelinin intravenöz olarak verilmesi doza bağlı olarak gastrik asit sekresyonunu artırır ve mide hareketliliğini stimüle eder (Dornonville de la Cour et al., 2004, Korbonits et al., 2004). Ayrıca dolaşımdaki ghrelin seviyesi gastrik boşalma zamanı ile korelasyon gösterir (van der Lely et al., 2004).

Ghrelinin etanolla indüklenmiş gastrik ülserlere karşı koruyucu rolü olduğu gösterilmiştir. Bu koruyucu rolünü muhtemelen NO bağımlı santral mekanizma ile gerçekleştirdiği düşünülmektedir (Sibilia et al., 2003). Gastrektomi yapılan ratlarda dolaşımdaki ghrelin konsantrasyonunun %80 oranında azaldığı gösterilmiştir (Date et al., 2000, Dornonville de la Cour et al., 2001, van der Lely et al., 2004).

9.Karbonhidrat metabolizması üzerine etkileri

Ghrelinin glikoz homeostazının ve insülin sekresyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (Gauna 2007). Ghrelinin glikoz homeostazı üzerine etkisi ilk kez Broglio ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. Bu çalışmada açıl ghrelin uygulamasının sağlıklı kişilerde, glisemide akut ve önemli bir artışa, dolaşımdaki insülin seviyesinde ise geçici bir düşüşe neden olduğu bulunmuştur (Broglio et al., 2003). Ancak desaçıl ghrelinin aynı etkilere neden olmadığı tespit edilmiştir (Gauna 2007). Bu sonuçlar açıl ghrelinin insülin sekresyonunda ve glikoz metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Açıl ghrelin, açlığa karşı

hormonal ve metabolik cevabın birleştirilmesinde fonksiyon görüyor olabilir (van der Lely et al., 2004).

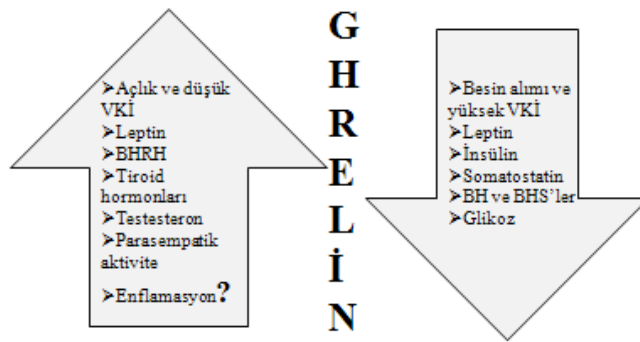
Ghrelinin insülin salımı üzerine etkisinin değerlendirildiği bir başka çalışmada ise ghrelinin rat pankreas adacıklarına uygulanması durumunda, β -hücrelerinde sitosolik serbest kalsiyum konsantrasyonunu arttırarak insülin sekresyonunu uyardığı tespit edilmiştir (Korbonits et al., 2004).

10. Yağ dokusu üzerine etkileri

Ghrelinin adipogenezis sürecinde de önemli rol oynayabilir. Ghrelinin preadipositlerin farklılaşmasını uyardığı, buna karşılık lipolizi baskıladığı rapor edilmiştir (Korbonits et al., 2004). Hem açıl hem de desaçil ghrelinin rat kemik iliğine enjekte edildiğinde adipogenezisi kolaylaştırır. Bunun yanı sıra devamlı açıl ghrelinin enjeksiyonunun adipöz doku dışında da lipit metabolizmasını etkilediği bulunmuştur (Barazzoni et al., 2005). Ayrıca ghrelinin kemik iliğine enjekte edildiğinde spesifik olarak yağ hücre çoğalmasını uyardığı tespit edilmiştir (Thompson et al., 2004).

2.5.6. Ghrelinin Düzeyini Etkileyen Faktörler

Dolaşımdaki ghrelinin seviyesi gün içinde değişiklik gösterir ve beslenmeden hemen önce yükselir, beslenmeyi takiben ise azalmaya başlar. Ayrıca diurnal varyasyon gösterir, genellikle gece en yüksek değere ulaşır ve 02.00-04.00 saatleri arasında azalır (Cummings et al., 2002) (Şekil 3).



Şekil 3: Ghrelinin düzeyini arttıran ve azaltan faktörler

1.Açlık ve besin alımı

Akut veya kronik beslenme durumuna göre endojen ghrelin seviyesinde değişiklikler görülür. Açlık ghrelin seviyesinin artışına neden olurken, yemek alımını takiben ghrelin düzeyinde ani bir düşüş gözlenir ve beslenme sonrası en düşük seviyeye 60-120 dakika arasında ulaşır (Ariyasu et al., 2001). Yemek sonrası ghrelin seviyesindeki azalmanın alınan kalori miktarına bağlı olduğunu gösteren çalışmaların yanı sıra (Callahan et al., 2004), alınan besinin yapısının ya da kalori miktarının ghrelin seviyesi üzerine baskılayıcı bir etkisinin olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Caixas et al., 2002). Uzun süre açlık durumunda (yaklaşık 3 günlük açlıkta) başlangıç seviyesine göre ghrelin düzeyinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Chan et al., 2004).

2.Glikoz ve diyet

Beslenmeyle alınan karbonhidratların, proteinlerin ve yağların ghrelin seviyesini baskılayabildiği gösterilmiştir (Weigle et al., 2003, Gauna 2007). Yüksek yağlı diyetle uzun süre beslenilmesi durumunda plazma ghrelin seviyesinin azaldığı, diyetteki karbonhidrat içeriğinin artışına paralel olarak ise ghrelin seviyesinin arttığı gösterilmiştir. Yağ alımına bağlı olarak ghrelinin baskılanmasının, diyetle indüklenmiş adiposite gelişimini sınırlamaya yönelik bir düzenleyici mekanizma olabileceği düşünülmektedir (Sanchez et al., 2004).

Kan glikoz seviyesi ghrelinin düzenlenmesinde kritik rol oynayabilir; oral ya da intravenöz glikoz verilmesini takiben plazma ghrelin konsantrasyonunun azaldığı bulunmuştur (Shiia et al., 2002). Ayrıca kan glikozunun artışına ihtiyaç duyulmaksızın, insülin aktivitesine cevap olarak ghrelin miktarının azaldığı gösterilmiştir (McCowen et al., 2002).

3.İnsülin hormonu

İnsülinin plazma ghrelin konsantrasyonunun fizyolojik ve dinamik bir modülatörü olduğu tespit edilmiştir. Fizyolojik sınırlar içerisinde insülinemiye bağlı değişiklikler, plazma ghrelin seviyesinde de değişikliklere neden olur. Yapılan çalışmalar insülinin ghrelin üzerine inhibe edici bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (McCowen et al., 2002, Saad et al., 2002), ancak herhangi bir etkisinin olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Caixas et al., 2002).

İnsülin, direkt olarak ghrelin sekrete eden hücreleri etkileyerek veya diğer nöral ve hüneral mekanizmalar aracılığıyla ghrelin salımını azaltır. Açlık durumunda insülin azalması sonucu ghrelin konsantrasyonu artar ve beslenmeyi takiben insülin salımı plazma ghrelin seviyesinin baskılanmasına neden olur (Saad et al., 2002).

Ghrelinin de insülin salımının fizyolojik bir düzenleyicisi olduğu gösterilmiştir. Ghrelin pankreasın β - hücrelerinde insülin salımını, sentezini ve gen ekspresyonunu artırır. Bu bulgular enerji eksikliği durumlarında ghrelinin anabolik bir sinyal molekülü olabileceğini göstermektedir (Date et al., 2002).

Farmakolojik konsantrasyonlarda açıl ghrelin insülin direncini artırırken, açıl ve desaçıl ghrelinin birlikte verilmesi insülin sensitivitesini düzelterek yönde etki eder. Bu nedenle açıl ve desaçıl ghrelinin insülin sensitivitesi üzerine farklı fizyolojik ve metabolik etkilerinin olduğu düşünülmektedir (St-Pierre et al., 2007b).

4.Leptin ve diğer hormonlar

Adipoz doku kaynaklı bir hormon olan leptinin ghrelin seviyesinin düzenlenmesinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Ghrelinin açlığı ve besin alımını artırması ve adipositeyi indüklemesi, leptine karşıt bir etkisinin olduğunu gösterir. Farelerde yapılan çalışmalarda leptin uygulamasının gastrik ghrelin mRNA salımını uyardığı gösterilmiştir. Ayrıca leptin eksikliği bulunan farelerde ghrelin seviyesinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Toshinai et al., 2001). Yine insanlarda yapılan çalışmalarda da leptin eksikliğinin ghrelin seviyesini azalttığı bulunmuştur (Haqq et al., 2003). Diğer taraftan leptinin ghrelin üzerine etkisinin olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Chan et al., 2004).

Ekzojen somatostatin ve analoglarının plazma ghrelin konsantrasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Barkan et al., 2003).

Hipofizektomi yapılan ratlarda ilk ayda ghrelin seviyesinin üç kat arttığı bulunmuştur. Bu bulgu BH'nin ghrelin üzerine inhibe edici etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Korbonits et al., 2004).

Tiroid hormon eksikliği hem dolaşımdaki ghrelin seviyesinde hem de gastrik ghrelin mRNA seviyesinde artışa neden olurken, hipertroidizmde ghrelin seviyelerinde azalma gözlenmiştir (Caminos et al., 2002). Ayrıca erkeklerde, testosteron eksikliğinde daha düşük ghrelin değerleri tespit edilmiştir. Ratlarda

yapılan bir çalışmada melatoninin ghrelin sekresyonunu inhibe ettiği bulunmuştur (Korbonits et al., 2004).

5.Enerji dengesi

Ghrelin enerji dengesine pozitif yönde etki eder ve bunun sonucunda adipositenin artışına neden olur (Muccioli et al., 2002). Kilo ile negatif bir korelasyon gösterir ve düşük kalorili diyetle beslenen bireylerde ghrelin düzeyi daha düşük bulunmuştur. Açlık dolaşımındaki ghrelin düzeyini, mide ghrelin mRNA ve protein ekspresyonunu, ayrıca hipotalamik BHS-R mRNA ekspresyonunu artırır (Cummings et al., 2002, Lucidi et al., 2005).

6.Cinsiyet

Yapılan çalışmalarda cinsiyet ile ghrelin seviyesi arasındaki ilişkiye yönelik farklı sonuçlar mevcuttur. Cinsiyetin ghrelin düzeyini etkilemediğini bildiren çalışmaların yanı sıra (Purnell et al., 2003, Chan et al., 2004, Vendrell et al., 2004), kadınlarda, özellikle geç luteal fazda daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Barkan et al., 2003, Makovey et al., 2007, Ingelsson et al., 2008). Menopozal durumun ghrelin seviyesine etkisine yönelik yapılan çalışmaların bir kısmında menopozla ghrelin seviyesi arasında bir ilişki bulunamazken (Purnell et al., 2003), perimenopozal dönemde, pre- veya postmenopozal döneme kıyasla ghrelin düzeyinin daha yüksek olduğunu belirten çalışmalarda vardır (Sowers et al., 2008). Postmenopozal kadınlarda östrojen-progesteron tedavisinin serum ghrelin konsantrasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Di Carlo et al., 2007).

7.Yaş

Yaşın ghrelin seviyesi üzerine etkisi henüz kesinlik kazanmamıştır. Yaşla ghrelin düzeyleri arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını gösteren çalışmalarla birlikte (Shiia et al., 2002), plazma ghrelin seviyesinin yaşla pozitif yönde veya negatif korelasyon gösterdiğini bulan çalışmalar da mevcuttur (Purnell et al., 2003, Chan et al., 2004, Ingelsson et al., 2008).

8.Obezite

Yapılan çalışmalar obezite ile ilişkili hastalık gelişiminin bağırsak kaynaklı hormonal düzensizlikle ve kronik enflamasyonla ilişkili olabileceğini göstermektedir (St-Pierre et al., 2007a). Obezite düşük BH ve ghrelin seviyesi ile karakterize bir hastalıktır, ancak yapılan çalışmalarda bu iki parametre arasında nedensel bir ilişki

bulunmamıştır (Korbonits et al., 2004). Zayıf bireylere kıyasla obez kişilerde hem total hem de açıl ghrelin seviyesi daha düşüktür (Muccioli et al., 2002, Shiiya et al., 2002, Suematsu et al., 2005). Plazma ghrelin seviyesinin vücut kütle indeksi (VKİ), vücut yağ kütlesi, adiposit boyutu, plazma insülin seviyesi, plazma leptin seviyesi ve plazma glikoz seviyesi ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Muccioli et al., 2002).

2.5.7. Ghrelin ve İmmün Sistem

İmmün ve nöroendokrin sistemler karşılıklı etkileşim halindedirler. İmmün hücreler esas olarak sitokin salgılayan ve sitokin reseptörlerine sahip hücrelerdir. Diğer taraftan nöroendokrin hücrelerden de sitokin üretildiği ve bu hücrelerde de sitokin reseptörlerinin bulunduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar immün hücrelerinden sitokinlerin yanı sıra çeşitli hormonların salgılandığını ve bu hormonlara ait reseptörlerin bulunduğunu göstermiştir. İmmün hücrelerden salgılanan bu hormonların nöroendokrin sistem için spesifik olduğu düşünülmektedir. Yine de bu hormonların sadece nöroendokrin hücrelere etki etmediği, aynı zamanda immün hücreler üzerine de etkili olduğu görüşü kabul edilmektedir. Benzer şekilde hem immün hem de nöroendokrin hücreler üzerine etki eden sitokinlerin de, her iki sistemde de aynı reseptörleri kullanarak, bu sistemlerin fonksiyonlarını düzenlediğine inanılmaktadır (Hattori 2009).

Ghrelinle ilgili yapılan araştırmaların çoğu bu hormonun endokrin fonksiyonlarıyla ilgilidir. Ancak fonksiyonel BHS-R'nin çeşitli immün hücre alt gruplarında da bulunması (Dixit et al., 2004), bu peptidin immün hücre alt grupları üzerine immünomodülatör etki edebileceği hipotezini ortaya çıkarmıştır (Dixit and Taub 2005).

İnsan kan ve tonsil B lenfositlerinde, T lenfositlerinde, doğal öldürücü hücrelerinde ve monositlerinde BH reseptör (BHR) varlığı gösterilmiştir (Hattori et al., 2001, Dixit et al., 2004). Bu hücrelerin yanı sıra rat periferik kan mononükleer hücrelerinde, kemik iliğinde, timusta, dalak ve lenf nodlarında da BHR varlığı tespit edilmiştir (Gnanapavan et al., 2002, Hattori 2009). Yapılan çalışmaların çoğunda

BHR salgılayan ana immün hücrelerin B lenfositler ve monositler olduğu bulunmuştur (Hattori et al., 2001). İmmün sistem hücrelerinde BHR ekspresyonunun varlığı BH'nin bu hücre tipleri üzerine, özellikle de B lenfosit, monosit ve makrofajlar üzerine etkisinin olduğunu düşündürmektedir (Hattori 2009).

İmmün sistem hücrelerinden BHR'nin yanı sıra ghrelin salgılandığı da gösterilmiştir. İnsan T lenfositlerinin preproghrelin salımı yapabildiği, ayrıca hem açıl hem de desaçıl ghrelin üretebildiği ve sekrete edebildiği bulunmuştur (Dixit et al., 2004). Farelerde, ghrelinin doza bağlı olarak dalak T hücre çoğalmasını inhibe ettiği gösterilmiştir. Ghrelin reseptörünün dalak T lenfositlerinde varlığı ve T hücre sitokin üretimini etkilemesi, bu hormonun lenfosit üretimi ve çoğalması üzerine fonksiyonel bir role sahip olduğunu kanıtlar niteliktedir (Xia et al., 2004).

Enflamatuvar bağırsak hastalığı, ülseratif kolit ve Crohn's hastalığı gibi immünolojik rahatsızlıklarda serum ghrelin konsantrasyonunun arttığı rapor edilmiştir (Karmiris et al., 2008). Şiddetli romatoid artrit (RA) hastalarında TNF- α blokajının dolaşımdaki ghrelin konsantrasyonunu arttırdığı ve buna bağlı olarak endotelial aktivitenin azaldığı bildirilmiştir (Gonzalez-Gay et al., 2008).

Total ghrelin konsantrasyonunun kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan bireylerde TNF- α ve C-reaktif protein (CRP) ile negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (Luo et al., 2005). Ayrıca kronik respiratuvar hastalığı olan bireylerde ghrelin verilmesini takiben nötrofil akümülyasyonunun baskılandığı ve IL-8, TNF- α ve miyeloperoksidaz seviyelerinin de azaldığı rapor edilmiştir (Kodama et al., 2008).

Aşırı kilolu ve obez bireylerde yapılan bir çalışmada ise açıl ghrelin düzeyinin çözünür TNF tip 1 reseptör (sTNF-R1) konsantrasyonu ile negatif, açıl ghrelin/total ghrelin oranının ise TNF- α seviyesi ile pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Bu etkileşim total adipositenin etkisi ortadan kalktıktan sonra bile persiste kalmıştır. Bu bulgulara göre, açlık açıl ghrelin seviyesinin sTNF-R1 konsantrasyonundaki değişikliklerin yaklaşık %23'ü için bağımsız bir belirteç olduğu söylenebilir (St-Pierre et al., 2007a). Şiddetli obezitesi olan bireylerde yapılan başka bir çalışmada ise ghrelin sTNF-R2 ile pozitif yönde ilişkili bulunmuştur (Vendrell et al., 2004).

Genel olarak ghrelin seviyesinin enflamasyon durumunda arttığı söylenebilir. Ancak ghrelin konsantrasyonundaki bu artışın enflamasyonun nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu henüz netlik kazanmamıştır (Hattori 2009).

Bakteriyel LPS gram negatif bakterilerin hücre duvarında yer alır ve endotoksik şok patogenezinin temel bileşenlerinden birisidir. Özellikle monositler ve B hücreleri üzerine etki ederek akut faz cevabının oluşmasına ve aşırı miktarda IL-1 β , IL-6 ve TNF- α üretimine neden olur. Ghrelin LPS ile indüklenmiş endotoksemide, dolaşımdaki ve dokudaki bu proenflamatuvar sitokinlerin seviyelerini azaltarak güçlü antiinflamatuar etki gösterir (Dixit et al., 2004, Vila et al., 2007). Ghrelinin IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinler üzerine hem mRNA hem de protein sentezi seviyesinde güçlü inhibitör aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu etkisini, doza ve zamana bağlı olarak, spesifik BHS-R mekanizması aracılığıyla gerçekleştirir (Dixit and Taub 2005, Granado et al., 2005, Waseem et al., 2008). Ghrelin, ayrıca endotelial hücrelerden LPS'ye karşı üretilen proenflamatuvar sitokinleri de inhibe eder ve bu etkisi nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) aktivitesini azaltmasıyla ilişkilidir (Li et al., 2004).

Akut LPS enjeksiyonu ghrelinin serum konsantrasyonunun azalmasına neden olurken (Dixit et al., 2004, Wang et al., 2006), LPS verilmesinden 24 saat sonra veya devamlı LPS verilmesi sonucu serum ghrelin konsantrasyonunda artış olduğu gözlenmiştir (Granado et al., 2005). Periferik LPS enjeksiyonuna karşı oluşan akut faz cevabının modülasyonunda PG ve sitokinlerin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. LPS verilmesini takiben ilk 2-3 saat içerisinde meydana gelen plazma ghrelin seviyesindeki inhibisyonun PG'lerin ve IL-1 β 'nin üretimiyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir. (Wang et al., 2006).

LPS hem mRNA hem de protein seviyesinde BHS-R1a üretimini artırır ve dolayısıyla sepsisin hiperdinamik fazında, vasküler reaktivitenin artışına neden olur. Ghrelin LPS'ye karşı oluşan cevabı düzenleyerek antiinflamatuar etki gösterir. Endotelial hücrelerde yapılan bir çalışmada, akut enflamasyonun BHS-R1a mRNA salımını arttırdığı, bu hücrelerin ghrelin ile muamele edilmesi sonucu ise bu etkinin azaldığı bulunmuştur (Chow et al., 2009).

Ghrelin, proenflamatuvar sitokinlerin yanı sıra dalak T lenfosit çoğalmasını da inhibe eder (Dixit et al., 2009). Hem Th1 sitokinlerinin (IL-2 ve IFN- γ) hem de Th2 sitokinlerinin (IL-4 ve IL-10) mRNA salımını baskılar (Xia et al., 2004). Ancak ghrelinin IL-10 salımını arttırarak Th2 cevabını arttırdığı, bu yolla antiinflamatuar aktivite gösterdiği de bulunmuştur (Waseem et al., 2008). Ghrelinin güçlü

antienflamatuvar aktivitesine bağlı olarak sistemik enflamatuvar cevapta da önemli derecede azalma olduğu tespit edilmiştir (Konturek et al., 2009). Ayrıca sistemik açıdan sağlıklı bireylerde T hücrelerinin ghrelinle uyarılması sonucu IL-4 ve IL-13 protein seviyelerinde artış meydana geldiği gözlenmiştir. Crohn's hastalığı olan bireylerde aynı etkiyi göstermemesi, bu hastalarda periferel T hücrelerinin ghreline karşı değişmiş reaktivite gösterdiğini düşündürmektedir (Hosomi et al., 2008).

Yapılan çalışmalarda ghrelinin TNF- α ile indüklenmiş IL-8 salımını doza bağlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. 10 ng/ml ve üzerindeki açıl ghrelin bu inhibisyonu gerçekleştirirken; desaçil ghrelinin 1000 ng/ml üzerindeki konsantrasyonda bile TNF- α ile indüklenmiş IL-8 salımını inhibe edemediği tespit edilmiştir. Dolayısıyla n-oktanilasyonun ghrelinin antienflamatuvar etkisi için önemli rol oynadığı söylenebilir. Ghrelin aynı zamanda TNF- α ile indüklenmiş MCP-1 salımını da inhibe eder (Li et al., 2004). Ayrıca, doza bağlı olarak TNF- α stimülasyonu olmadan da bazal IL-8 ve MCP-1 üretimini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu bulgular ghrelinin kemotaktik sitokinler üzerine güçlü inhibitör aktiviteye sahip olduğunu gösterir niteliktedir (Li et al., 2004, Kellokoski et al., 2009a).

Ghrelinin lökosit fagositozu üzerine de etkisinin olduğu düşünülmektedir. Ghrelinin lökositlerde süperoksit dismutaz ve BH mRNA seviyesini arttırdığı gösterilmiştir (Hattori 2009). Diğer taraftan akut soğuğa bağlı stres durumunda ghrelin uygulamasının peritonel makrofajların artmış fagositik aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir (Tumer et al., 2007).

Yine de ghrelinin eşzamanlı olarak proenflamatuvar sitokin üretimini inhibe edip, antienflamatuvar sitokin üretimini aktive etmesindeki mekanizma henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Farklı hücreyel sinyal yollarının bu biyolojik fenomenin açıklanabilmesinde rol alabileceği düşünülmektedir. Diğer proenflamatuvar sitokinlerden farklı olarak NF- κ B promotör alanı IL-10 promotör sırasında bulunmaz. LPS'ye bağlı IL-10 stimülasyonunda p38MAP kinaz önemli rol oynar. Ghrelinin BHSR aracılıyla p38MAP kinaz aktivasyonunu arttırması ghrelinle ilişkili IL-10 artışının olası mekanizması olabilir. Ayrıca ghrelinin NF- κ B aktivasyonunu inhibe etmesi (Hou et al., 2009), bu yoldaki değişiklikle ilişkili IL-1 β ve TNF- α artışına karşıt etki göstermesinin nedeni olabilir (Waseem et al., 2008).

Ghrelinin antienflamatuvar aktivitesindeki mekanizmalardan birisi de NO yolunu regüle etmesiyle ilişkilidir. Ghrelin uygulaması sonucu NO üretimi önemli ölçüde artar ve NO, NF-κB miktarını azaltarak proenflamatuvar sitokin gen üretiminin azalmasına neden olur (Chen et al., 2008a).

Ghrelinin antienflamatuvar özelliğinden dolayı, dolaşımdaki ghrelin seviyesinin azalması, akut immün uyarıya cevap olarak meydana gelen genel enflamatuvar cevabın artmasına neden olabilir (Dixit et al., 2004, Granada et al., 2005, Madison et al., 2008). Septik şokta ghrelin verilmesini takiben hastalık şiddetinin azalmasının nedenlerinden birisi, ghrelinin enflamasyonu akut olarak baskılaması olabilir. Ghrelinin ve analoglarının akut enflamasyondaki bu terapötik yararları, bu hormonun kronik enfeksiyonlarda da yararlı olabileceğini düşündürmektedir (Madison et al., 2008).

2.5.8. Ghrelin ve Kemik Metabolizması

Rat osteoblastlarının BHS-R1a ekspresyonu ve ghrelinin bu hücrelerinin farklılaşmasını ve çoğalmasını indüklemesi, bu hormonun kemik metabolizması üzerine etkisi olduğunu göstermektedir (Fukushima et al., 2005, Maccarinelli et al., 2005). Yapılan çalışmalarda BHS'lerin iskeletsel gelişimi hızlandırdığı ve kemik mineral içeriğini arttırdığı tespit edilmiştir (Svensson et al., 2001, Wells and Houston 2001). Ghrelinin ayrıca normal ve BH eksikliği bulunan ratlarda kemik mineral densitesini (KMD) arttırdığı bulunmuştur (Fukushima et al., 2005).

Ghrelinin kemik korunumu üzerine etkisine yönelik olası mekanizmalardan birisi BH ile kemik arasındaki ilişkiye dayanır. Ghrelin, BH salımını uyararak kemik metabolizmasını etkileyebilir. Diğer bir mekanizma ise ghrelinin vücut kütlesini ve kompozisyonunu etkileyerek kemiğin korunmasına yardımcı olmasıdır (Weiss et al., 2006). Bunun yanı sıra kemik hücrelerinin ghrelin kaynağı olması, sitokinler, büyüme faktörleri, PG'ler ve NO gibi lokal faktörler aracılığıyla otokrin veya parakrin yolla da kemik dokusu üzerine etkisinin olabileceğini düşündürmektedir (Maccarinelli et al., 2005).

Ghrelinin osteoblast farklılaşması üzerine etkisine yönelik olarak osteoblast farklılaşma belirleyicilerinden Runx2, kolajen tip 1- α 1, ALP ve OSC'nin değerlendirilmesi sonucu, ghrelinin erken osteoblast farklılaşma belirleyicilerinden kolajen tip 1 ve ALP'yi önemli miktarda arttırdığı bulunmuştur (Fukushima et al., 2005, Maccarinelli et al., 2005). Bu artışın 5. günde belirgin hale geldiği tespit edilmiştir. Farklılaşmanın geç dönem belirteci olan OSC'ni ise 7. günden itibaren arttırdığı bulunmuştur. Ghrelinin ayrıca kalsiyum birikimini de arttırdığı gözlenmiştir (Fukushima et al., 2005).

Primer kültüre osteoblastlarda ve immortalize osteoblast hücre dizilerinde, hem mRNA hem de protein seviyesinde ghrelin reseptörünün gösterilmesi, ghrelinin osteoblastlar üzerine fizyolojik bir fonksiyonu olduğunu düşündürmektedir (Kim et al., 2005, Maccarinelli et al., 2005). Yine eksojen ghrelin uygulamasının osteoblastların farklılaşmasını ve çoğalmasını arttırdığı rapor edilmiştir. Ayrıca *in vivo* ghrelin uygulamasının femurda, endokondral kemik formasyonunu, dolayısıyla KMD'yi arttırdığı tespit edilmiştir. BH eksikliği olan ratlarda da aynı etkiyi göstermesi, bu etkinliğinin BH'ye bağlı olmadığını gösterir (Fukushima et al., 2005). Tüm bu etkilerinin yanı sıra *in vitro* olarak osteoblast aracılığıyla ossifikasyonu stimüle ettiği de bulunmuştur (Kim et al., 2005). Tüm bu bulgular ghrelinin kemik remodelinginde rol oynayabileceğini göstermektedir.

Ghrelinin ayrıca intramembranöz kemik tamiri üzerine stimülatör rol oynadığı bulunmuştur. Ghrelinin bu etkinliğinin, defekt çevresinde mezenşimal kök hücrelerinden osteoblastların farklılaşmasını stimüle etmek yoluyla gerçekleştirdiği tespit edilmiştir. Ayrıca ghrelinin osteoblast farklılaşma belirteçlerinden ALP, OSC ve kolajen tip 1 ekspresyonunu arttırdığı ve ghrelinin kemik defektlerinin tamirinde terapötik amaçla kullanılabileceği rapor edilmiştir (Deng et al., 2008).

Kemik rezorpsiyon sürecinde önemli rol oynayan mediyatörlerden RANKL ve OPG'nin değerlendirildiği bir çalışmada, kronik böbrek hastalığı olan bireylerde, ghrelinin RANKL/OPG sistemi ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu bulgu ghrelinin kemik metabolizması üzerine etkisinin bu yol aracılığıyla düzenleniyor olabileceğini düşündürmektedir (Ozkaya et al., 2007).

Rat osteoblastlarında BHS-R1a bulunmasına ve ghrelinin proliferatif etkisinin bu yol aracılığıyla gerçekleştiğinin düşünülmesine rağmen (Fukushima et al., 2005,

Maccarinelli et al., 2005); insan kemik dokusunda BHS-R1a'nın bulunmaması, buna karşılık osteoblastların BHS-R1b eksprese edebildiğinin gösterilmesi, ghrelinin türler arasında farklı reseptörleri kullandığını göstermektedir (Delhanty et al., 2006). Delhanty et al. (2006) insan osteoblastları üzerinde yaptıkları çalışmalarında, BHS-R1b ekspresyonunun farklılaşma sırasında belirgin bir şekilde arttığını ve yaklaşık %400'e ulaştığını tespit etmişlerdir. Farklılaşma göstermeyen hücrelerde ise BHS-R1b ekspresyonunda önemli bir artış gözlenmediği belirtilmiştir. Aynı çalışmada ghrelinin lokal olarak kemik dokusundan üretilebildiği de gösterilmiştir. İnsan osteoblast hücrelerinden BHS-R1a'dan farklı bir reseptör ekspresyonunun gösterilmesi, desaçil ghrelinin bu hücreler üzerine etki edebileceğini düşündürmektedir. Hem ghrelinin hem de desaçil ghrelinin nanomolar konsantrasyonda osteoblast çoğalması üzerine indüktif etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Delhanty et al., 2006). Bir başka çalışmada ise sağlıklı çocuklarda açıl ghrelin seviyesi ile KMD arasında negatif yönde; zayıf çocuklarda pozitif yönde ilişki olduğu bulunmuştur. Obez çocuklarda ise desaçil ghrelin ile KMD arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir. Bu bulgular ghrelinin her iki formunun da kemik metabolizması üzerine etkili olduğunu göstermektedir (Pacifico et al., 2009).

Ghrelinin 10^{-11} - 10^{-7} M konsantrasyonlarda, doza bağlı olarak osteoblast çoğalmasını indüklediği bulunmuştur. Ghrelinin aynı zamanda TNF- α ile indüklenmiş osteoblast apoptozisini önemli oranda azalttığı gösterilmiştir. Osteoblast apoptozisi yeni kemik matriksinin depozisyonundan sorumludur ve kemik için önemli bir olaydır. Başlangıçta remodeling alanında bulunan osteoblastların yaklaşık olarak %70'i apoptozis sürecine girer. Bu nedenle osteoblastların apoptozisi osteoporoz patogenezinde önemli rol oynar. Ayrıca TNF- α da çeşitli kemik hastalıklarının patogenezinde etkin role sahiptir. Ghrelinin farmakolojik ve fizyolojik koşullarda antiapoptotik etki göstermesi ve osteoblast farklılaşmasını ve çoğalmasını stimüle etmesi, osteoblastların yaşam döngüsü üzerine modüle edici etkisinin olduğunu kanıtlar niteliktedir (Kim et al., 2005).

Ghrelinin kemik metabolizması üzerine etkisine yönelik farklı sonuçlar mevcuttur. Kemik kaybı veya KMD ile ghrelin arasında bir ilişkinin olmadığı bulunmuştur. Ancak erkeklerde ghrelin ile N-telopeptid arasında negatif yönde bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Weiss et al., 2006). Postmenopozal kadınlarda plazma

ghrelin konsantrasyonu ile total kemik mineral içeriği ve total KMD arasında negatif bir korelasyon tespit edilmiştir (Jurimae et al., 2008). Koreli erkekler üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise femur boynu veya bel omuru KMD'si ile ghrelin arasında bir korelasyon bulunmamıştır (Oh et al., 2005). Postmenopozal kadınlarda yapılan bir çalışmada da östrojen-progesteron tedavisi görenlerde serum ghrelin düzeyi daha yüksek bulunmasına rağmen, ghrelin ile kantitatif ultrason kemik densitometresi ve OSC arasında bir korelasyon bulunmamıştır (Di Carlo et al., 2007).

Dolaşımdaki ghrelinin yaklaşık olarak 2/3'ü mideden üretilir. Gastrektomi yapılan hastalarda, ghrelin seviyesinin %65 oranında azaldığı tespit edilmiştir ve bu hastalarda osteopeni ve osteomalazi görülme riski daha fazladır. Bu hastalarda dolaşımdaki ghrelin seviyesinin azalması kemik kaybıyla ilişkili olabilir. Ghrelin konsantrasyonu kemik rezorpsiyonu ile negatif korelasyon göstermesine rağmen, gastrektomi yapılan hastalara ghrelin verilmesi sonucu kemik turnover belirteçleri üzerine herhangi bir akut etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Huda et al., 2007). Yine de sistemik ghrelin konsantrasyonunun KMD ile korelasyon göstermesi, gastrektomiye bağlı osteopenide sistemik ghrelin düzeyinde önemli miktarda düşüş olması ve normal veya BH eksikliği olan ratlarda ghrelinin KMD'yi artırması bu hormonun osteoporoz veya diğer kemik hastalıklarında terapötik amaçla kullanılabileceğini düşündürmektedir (Leite-Moreira and Soares 2007).

2.6. Periodontal Hastalık ve Ghrelin Hormonu

Son yıllarda yapılan çalışmalar ghrelinin sadece endokrin fonksiyonlarının olmadığını, antienflamatuvar, antioksidan etki gibi farklı etkilerinin de olduğunu göstermektedir (Li et al., 2004, Obay et al., 2008). Ghrelinin proenflamatuvar sitokin ve kemokin üretimini inhibe ettiği ve enflamatuvar hücre büyümesini baskıladığı bilinmektedir (Koca et al., 2008). Ghrelinin LPS ile indüklenmiş enflamasyonu baskıladığı, aynı zamanda doza ve zamana bağlı olarak TNF- α , IL-1 β gibi sitokinlerin üretimini inhibe ettiği gözlenmiştir (Waseem et al., 2008).

Ghrelinin LPS ile indüklenmiş enflamasyonda IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinler üzerine güçlü inhibitör etki göstermesi (Dixit et al., 2004,

Vila et al., 2007), antioksidan etkinliğinin olması, bu hormonun immün cevabın ve konak defans mekanizmasının bir parçası olduğunu düşündürmektedir (El Eter et al., 2007, Obay et al., 2008). Ayrıca osteoblastlar üzerine farmakolojik ve fizyolojik koşullarda antiapoptotik etki etmesi ve osteoblastların farklılaşmasını ve çoğalmasını stimüle etmesi, osteoblastların yaşam döngüsü üzerine modüle edici etkisinin olduğun kanıtlar niteliktedir (Kim et al., 2005). Bu bağlamda, ghrelinin proenflamatuvar sitokin artışıyla ve kemik kaybıyla ilişkili periodontal hastalık patogenezinde de rol oynayabileceği akla gelmektedir.

Bu çalışmada şiddetli kronik periodontitisi olan bireylerde dolaşımdaki ghrelin seviyelerinde periodontal sağlıklı bireylere kıyasla bir değişiklik olup olmadığının ve aynı zamanda ghrelinin periodontal hastalıktaki, klinik enflamasyon ve yıkım bulguları ile ilişkili olup olmadığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grupları

Çalışmaya Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran, 29-42 yaş arası toplam 70 birey dahil edildi.

Çalışmaya;

- Hikayesinde herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan,
- VKİ<25 kg/m²,
- Açlık kan şekeri (AKŞ)<110 mg/dl,
- HDL-kolesterol>35 mg/dl, LDL-kolesterol<130 mg/dl, total kolesterol (TK)<200 mg/dl ve TRG<200 mg/dl olan,
- Oral kontraseptif ilaç kullanmayan, menopoza girmemiş, hamile veya laktasyon döneminde olmayan
- Sigara kullanmayan,
- Son 6 ayda periodontal tedavi görmemiş ve son 3 ayda antibiyotik ve antiinflamatuvar ilaç kullanmamış,
- Agresif periodontitis teşhisi konmayan, ayrıca oral patolojisi veya immün sistem bozuklukları olmayan bireyler dahil edildi.

Ayrıca bireylerin sistemik durumları, bireysel anamnezlerine bakılmaksızın ayrıntılı sistemik muayeneden geçirilerek belirlendi. Bireylerin kan yağ profili ve AKŞ düzeyleri Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda değerlendirildi.

Çalışmaya dahil edilen tüm bireylere çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında bilgi verilerek onam formu imzalatıldı. Araştırma için Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı (Toplantı tarihi:10.02.2009, Toplantı sayısı: 02).

Bireyler periodontal durumlarına göre iki gruba ayrıldı (Offenbacher et al., 1996).

1. CD ≤ 3 mm ve KAS ≤ 2 mm olan bireyler periodontal açıdan sağlıklı (S),

2. En az dört dişte bir veya daha fazla alanda klinik ataçman kaybıyla beraber $CD \geq 5$ mm olan bireyler kronik periodontitis (KP) olarak değerlendirildi.

Periodontal teşhise bağlı olarak periodontal açıdan sağlıklı 35 birey ve kronik periodontitisi olan 35 birey çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya katılan tüm bireylerden periodontal kayıtlar ve venöz kan örnekleri alındı. Plazma ghrelin seviyesinin yemeklerden 1-2 saat önce yaklaşık %78 artış gösterdiği tespit edildiğinden dolayı (Cummings et al., 2001) kan örnekleri sabah kahvaltıdan önce, aç karnına alındı.

3.2. Klinik Değerlendirme

3.2.1. Gingival İndeks (Gİ)

Dişetindeki enflamasyonu belirlemek amacıyla Loe ve Silness'in Gİ sınıflaması kullanıldı (Loe 1967). Bu sınıflamaya göre;

0=Sağlıklı dişeti

1=Hafif iltihap varlığı: Hafif renk değişikliği, hafif ödem mevcut, ancak sondlamada kanama yok

2=Orta derecede iltihap varlığı: Kırmızılık, ödem, parlaklık ve sondlamada kanama vardır

3=Şiddetli iltihap varlığı: Belirgin kırmızılık ve ödem vardır. Ülserasyonlar ve spontan kanamaya eğilim mevcuttur.

Bireye ait Gİ değeri; her dişin meziobukkal, bukkal, distobukkal ve lingual yüzeyinden alınan Gİ değerleri toplandıktan sonra aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$G\bar{I} = \frac{\text{Tüm dişlerdeki Gİ değeri toplamı}}{\text{Mevcut diş sayısı}} \times 4$

3.2.2. Plak İndeksi (Pİ)

Plak ölçümünde Silness ve Loe'nin tanımladığı Pİ kullanıldı (Silness and Loe 1964). Bu indekse göre;

0=Dişeti bölgesinde bakteri plağı olmadığı,

1=Serbest dişeti kenarında gözle görülemeyen ancak sondun gingival sulkusta gezdirilmesiyle fark edilebilen plak varlığını,

2=Dişeti cebi içerisinde ve dişeti kenarına komşu diş yüzeyinde orta derecede plak varlığını,

3=Dişeti cebi içerisinde ve dişeti kenarına komşu diş yüzeyinde gözle görülebilir miktarda yoğun, yumuşak eklenti varlığını gösterir.

Bireye ait Pİ değeri; her dişin meziobukkal, bukkal, distobukkal ve lingual yüzeyinden alınan Pİ değerleri toplandıktan sonra aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$Pİ = \frac{\text{Tüm dişlerdeki Pİ değeri toplamı}}{\text{Mevcut diş sayısı}} \times 4$

3.2.3. Sondlamada Kanama Yüzdesi (SK%)

Periodontal sond gingival sulkus içerisinde hafif bir basınç uygulanarak gezdirildiğinde, kanama olması durumunda (+), kanama olmaması durumunda (-) değer verildi. Sonuç değer yüzde olarak hesaplandı (Ainamo and Bay 1975).

$SK\% = \frac{\text{Kanama olan diş sayısı} \times 100}{\text{Mevcut diş sayısı}}$

3.2.4. Periodontal Cep Derinliği (CD)

Cep derinliği meziobukkal, bukkal, distobukkal, meziolingual, lingual ve distolingual olmak üzere altı bölgeden ölçüldü. Ölçümlerde Williams periodontal sondu kullanıldı (Hu Friedy, Chicago, Illinois, USA).

Ölçümler sırasında periodontal sond basınç uygulanmadan, dişlerin uzun eksenine paralel olarak konumlandırıldı ve dişeti kenarından periodontal cep

tabanına kadar olan mesafe ölçülerek kaydedildi. Bireye ait tüm ağız ortalama CD'nin belirlenmesinde aşağıdaki formül kullanıldı.

$$CD = \text{Cep derinlikleri toplamı} / \text{Mevcut diş sayısı} \times 6$$

3.2.5. Klinik Ataçman Seviyesi (KAS)

Bireylerin KAS değerleri Williams periodontal sondu ile mine-sement sınırından periodontal cep tabanına kadar olan mesafe ölçülerek belirlendi. Ölçümler altı noktadan (meziobukkal, bukkal, distobukkal, meziolingual, lingual ve distolingual) yapıldı ve bireye ait tüm ağız ortalama KAS değeri aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$KAS = \text{Klinik ataçman seviyeleri toplamı} / \text{Mevcut diş sayısı} \times 6$$

3.3. Kan Örneklerinin Hazırlanması

Çalışmaya katılan tüm bireylerden alınan venöz kan 2 ml'lik EDTA'lı tüplere ve 8 ml'lik düz biyokimya tüpüne yerleştirildi.

Açıl ghrelinin proteazlar tarafından yıkımını engellemek amacıyla soğutulmuş EDTA'lı tüpe alınan kana her 1 ml kan için 40 µl aprotinin (Sigma-Aldrich, USA) ilave edildi. Örnekler +4°C'de, 3,500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen plazma ayrı eppendorf tüplerine alındı. Daha sonra plazma örneklerine, her 1 ml plazma için 1/10 oranında 1N hidroklorik asit eklenerek, +4°C'de, 3,500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi (Eppendorf Centrifuge 5415R, Alman). Süpernatantlar ayrı eppendorf tüplerine alındı ve elde edilen örnekler parafilmle kaplanarak analiz edilene kadar -80°C'de saklandı (Hosoda et al., 2004, Kojima and Kangawa 2005).

IL-1 β , TNF- α ve RANKL analizleri için düz biyokimya tüplerine alınan kan oda sıcaklığında 4000 rpm'de 4 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serum ayrı eppendorf tüplerine alındı. Eppendorf tüpleri parafilm ile kaplanarak analiz gününe kadar -80°C'de saklandı.

ALP VE OSC analizleri için düz biyokimya tüplerine alınan kan oda sıcaklığında 10.000 rpm’de 4 dakika santrifüj edildi (Nüve NF 1200R, Japonya).

Kan yağlar ve AKŞ analizleri için düz biyokimya tüplerine alınan kan oda sıcaklığında 10.000 rpm’de 4 dakika santrifüj edilerek (Nüve NF 1200R, Japonya) spektrofotometrik yöntemle değerlendirildi (Olympos AU 2700, Japonya).

3.4. Biyokimyasal Değerlendirme

3.4.1. Plazma Total ve Aktif Ghrelin Analizi

Örneklerin analizleri Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı’nda yapıldı. Açıl ve total ghrelin analizleri için Sandwich enzim bağlı immunosorbant assay (ELISA) ticari kitleri (Millipore® Human Ghrelin (Active) ELISA kiti, Cat. no: EZGRA-88K ve Millipore® Human Ghrelin (Total) ELISA Kiti, Cat. no: EZGRT-89K, USA) kullanıldı. Sonuçlar pg/ml olarak belirlendi.

Çalışmamızda; analizde kullanılacak çözeltiler kitle bildirilen yönteme uygun olarak hazırlandıktan sonra her kuyucuk 300 µl dilue edilmiş Wash Buffer solüsyonu ile yıkanarak ısıtıldı. Kör, standart ve kalite kontrol kuyucuklarına 20 µl Matriks solüsyonu eklendi. Sonrasında kör ve örnek kuyucuklarına 30 µl, standart ve kalite kontrol kuyucuklarına 10 µl assay buffer eklendi. Devamında dublike 20 µl ghrelin standartı konsantrasyonu arttırmak amacıyla uygun kuyucuklara eklendi. Aynı kuyucuklara dublike 20 µl QC1 ve QC2 eklendi. Kalan kuyucuklara ise sırayla bilinmeyen örneklerden 20 µl eklendi. Antibody Solution Mixture (1:1 yakalanmış ve belirlenmiş antikor) buffer ya da reagent rezervuarına transfer edildi ve her kuyucuğa 50 µl eklendi. Plateler plate sealer ile kaplandı ve oda sıcaklığında, orbital mikrotiter plate karıştırıcıda orta hızda, yaklaşık 400-500 rpm’de 2 saat inkübe edildi. Plate sealer ve kuyucuklardaki sıvı uzaklaştırıldı. Her yıkama için 300 µl olacak şekilde kuyucuklar 3 kez dilue Wash Buffer ile yıkandı. Her kuyucuğa 100 µl Enzim Solüsyonu eklendi. Plate sealer ile kapatıldı ve oda sıcaklığında mikrotiter plate karıştırıcıda orta hızda 30 dakika inkübe edildi. Plate sealer ve kuyucuklardaki

solüsyonlar uzaklaştırıldı. Her yıkama için 300 µl olacak şekilde kuyucuklar 6 kez dilue Wash Buffer ile yıkandı. Her kuyucuğa 100 µl Substrate solüsyonu eklendi, plate sealer ile kapatıldı ve yaklaşık 5-20 dakika plate karıştırıcıda tutuldu. Ghrelin standartı içeren kuyucuklarda mavi rengin görülmesinden sonra plate sealer uzaklaştırıldı, 100 µl stop solüsyonu eklendi. Plate okuyucuda, 5 dakika içerisinde, 450 ve 590 nm'de absorbanslar okutuldu. Optik okuyucudan elde edilen değerlere göre bir eğri oluşturuldu.

Bu ticari kitler için en düşük belirlenebilir limit; total ghrelin için 100 pg/ml, açıl ghrelin için 25 pg/ml'dir (20 µl örnek).

3.4.2. Serum IL-1 β , TNF- α , sRANKL, ALP ve OSC Analizi

IL-1 β , TNF- α ve sRANKL analizleri için ELISA ticari kitleri (Diasource® IL-1 β Human EASIA kiti KAP1211, Diasource® TNF- α Human EASIA kiti KAP1751, Belçika ve Biovendor® sRANKL Human ELISA kiti RD193004200, Çek Cumhuriyeti) kullanıldı. Sonuçlar IL-1 β ve TNF- α için pg/ml, sRANKL için pmol/l olarak belirlendi.

Çalışmamızda; TNF- α ve IL-1 β analizlerinde kullanılacak çözeltiler kitlerde bildirilen yöntemeye uygun olarak hazırlandı. Daha sonra 200 µl kalibratör, kontrol ve örnekler uygun kuyucuklara eklendi. Plate oda sıcaklığında, horizontal karıştırıcıda 700 rpm \pm 100 rpm'de 2 saat inkübe edildi. Sonrasında her kuyucuktaki sıvı aspire edildi ve plate 0.4 ml yıkama solüsyonu ile üç kez yıkandı. Kuyucuklardaki sıvı tekrar aspire edildi. Tüm kuyucuklara 100 µl sıfır kalibratörü ilave edildi. Daha sonra 50 µl anti-TNF- α /IL-1 β -HRP konjugatı eklendi. Plate oda sıcaklığında, horizontal karıştırıcıda 700 rpm \pm 100 rpm'de 2 saat inkübe edildi. Kuyucuklardaki sıvı aspire edilerek plate 0.4 ml yıkama solüsyonu ile üç kez yıkandı ve kuyucuklardaki sıvı tekrar aspire edildi. Yıkama işleminden sonra 15 dakika içerisinde, 200 µl taze hazırlanmış revelation solüsyosyonu tüm kuyucuklara ilave edildi. Mikrotiter plate günışığı ile direkt teması engellenerek oda sıcaklığında, horizontal karıştırıcıda, 700 rpm \pm 100 rpm'de 30 dakika inkübe edildi. Sonrasında tüm kuyucuklara 50 µl stop

solüsyonu eklenerek kuyucukların absorbanı 450 nm ve 490 nm 'de (referans filtre 630 nm veya 650 nm) 3 saat içerisinde okutuldu.

sRANKL analizinde kullanılacak çözeltiler kitte bildirilen yöntemine uygun olarak hazırlandıktan sonra 100 µl standart, kalite kontrol, kör ve örnekler uygun kuyucuklara eklendi. Plate 2-8°C 'de 16-20 saat inkübe edildi. Her bir kuyucuk için 0,35 ml olacak şekilde Wash Solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Daha sonra her kuyucuğa 100 µl biotinle işaretlenmiş antibody solüsyonundan eklendi. Plate oda sıcaklığında, orbital mikropate karıştırıcıda, 300 rpm'de 1 saat inkübe edildi. Sonra her bir kuyucuk için 0,35 ml olacak şekilde Wash Solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Her kuyucuğa 100 µl Streptavidin-HRP konjugatı eklendi. Plate oda sıcaklığında, orbital mikropate karıştırıcıda, 300 rpm'de 1 saat inkübe edildi ve sonra her bir kuyucuk için 0,35 ml olacak şekilde Wash Solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Her kuyucuğa 100 µl Substrat solüsyonu eklendi ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. 100 µl Stop solüsyonu ilave edilerek reaksiyon sonlandırıldı. Plate okuyucuda, 5 dakika içerisinde, 450 nm'de absorbanlar okutuldu. Optik okuyucudan elde edilen değerlere göre bir eğri oluşturuldu.

Bu ticari kitler için en düşük belirlenebilir limit; TNF- α için 0,7 pg/ml; IL-1 β için 0.35 pg/ml ve sRANKL için 0,2 pmol/l'dir.

Serum ALP düzeyleri spektrofotometre yöntemiyle değerlendirildi (Olympos AU 2700, Japonya).

Serum OSC düzeyleri ECLIA (Electrochemiluminescence immünassay) yöntemi ile değerlendirildi (ELECSYS 2010, Japonya).

3.5. İstatistiksel Analiz

SPSS 15.0 for Windows® istatistik paket programı kullanıldı. Veriler, ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. İncelenen parametreler normal dağılım gösterdiği için gruplar arası ve grup içi karşılaştırmalarda bağımsız örneklem T testi (independent samples T test) kullanıldı. Cinsiyetin ve periodontal durumun total ve açıl ghrelin düzeyleri üzerine etkisi iki değişkenli faktöriyel düzeltme ile test edildi. Periodontal durum ve total ve açıl ghrelin düzeyleri arasındaki ilişki ki-kare testi ve

risk değerlendirmesi ile analiz edildi. Odds Ratio ve %95 güven aralığı (CI) değerleri hesaplandı. Periodontal parametrelerle biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyon Pearson's korelasyon analizi ile değerlendirildi. $P<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Gruplarının Demografik ve Klinik Özellikleri

Bu çalışmaya yaş ortalaması $35,54 \pm 3,72$ olan sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı 35 birey ve yaş ortalaması $36,91 \pm 2,78$ olan sistemik yönden sağlıklı, kronik periodontitisli 35 birey olmak üzere toplam 70 birey dahil edildi. Çalışma grupları, çalışma gruplarındaki bireylerin dağılımı ve grupların demografik ve klinik özellikleri tablo 4 ve 5'te gösterilmiştir. Gruplar arasında ve cinsiyete göre oluşturulan alt gruplar arasında yaş, cinsiyet, VKİ, TK, HDL, LDL ve TRG değerlerini içeren lipit profilleri ve AKŞ açısından anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p > 0.05$).

Tablo 4: Çalışma gruplarının demografik ve klinik özellikleri

	S	KP	p değeri
Cinsiyet (n) (Kadın/Erkek)	12/23	11/24	
Yaş	35.54 ± 3.72	36.91 ± 2.78	0.085
VKİ (Kg/m ²)	21.95 ± 1.21	22.30 ± 1.20	0.230
AKŞ (mg/dl)	90.49 ± 6.73	93.74 ± 7.36	0.057
TK (mg/dl)	164.60 ± 26.44	168.17 ± 23.32	0.410
TRG (mg/dl)	93.91 ± 39.40	95.20 ± 35.29	0.886
HDL (mg/dl)	50.91 ± 9.34	50.37 ± 11.34	0.828
LDL (mg/dl)	97.57 ± 30.54	100.19 ± 24.88	0.693

KP, kronik periodontitis; S, periodontal yönden sağlıklı; VKİ, vücut kitle indeksi; AKŞ, açlık kan şekeri; TK, total kolesterol; TRG, trigliserit; HDL, yüksek densiteli lipoprotein; LDL, düşük densiteli lipoprotein

Tablo 5: Cinsiyete göre oluşturulan alt grupların demografik ve klinik özellikleri

Grup (n)	S_K (12)	KP_K (11)	p değeri	S_E (23)	KP_E (24)	p değeri
Yaş	35.17±4.30	36.27±2.90	0.482	35.74±3.47	37.21±2.73	0.113
VKİ (Kg/m²)	21.28±1.51	21.51±1.28	0.695	22.30±0.86	22.66±0.99	0.192
AKŞ (mg/dl)	90.33±7.43	92.45±8.54	0.531	90.57±6.51	94.33±6.87	0.060
TK (mg/dl)	156.92±31.24	163.36±27.00	0.604	169.52±21.98	173.04±20.13	0.570
TRG (mg/dl)	72.33±18.88	73.45±11.03	0.865	105.17±42.82	105.17±38.18	1.000
HDL (mg/dl)	56.33±8.76	56.91±28.49	0.897	48.09±8.48	47.37±9.84	0.792
LDL (mg/dl)	91.93±41.62	92.91±28.49	0.949	100.50±23.06	103.53±22.91	0.654

S_K, periodontal sağlıklı kadın grubu; KP_K, kronik periodontitis kadın grubu; S_E, periodontal sağlıklı erkek grubu; KP_E, kronik periodontitis erkek grubu; VKİ, vücut kitle indeksi; AKŞ, açlık kan şekeri; TK, total kolesterol; TRG, trigliserit; HDL, yüksek densiteli lipoprotein; LDL, düşük densiteli lipoprotein

Çalışma gruplarının grup içi demografik ve klinik özellikleri

Çalışma grupları kendi içerisinde cinsiyete göre gruplandırıldığı zaman her iki grupta da VKİ ve TRG düzeylerinin erkeklerde kadınlara oranla daha yüksek, HDL düzeylerinin ise daha düşük olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Yaş, AKŞ, TK ve LDL seviyelerinin ise her iki grup için de cinsiyete bağlı bir farklılık göstermediği gözlemlendi ($p > 0.05$) (Tablo 6).

Tablo 6: Cinsiyete göre oluşturulan alt grupların grup içi demografik ve klinik özellikleri

Grup (n)	S		p değeri	KP		p değeri
	Kadın (12)	Erkek (23)		Kadın (11)	Erkek (24)	
Yaş	35.17±4.30	35.74±3.47	0.672	36.27±2.90	37.21±2.73	0.363
VKİ (Kg/m²)	21.28±1.51	22.30±0.86	0.015	21.51±1.28	22.66±0.99	0.006
AKŞ (mg/dl)	90.33±7.43	90.57±6.51	0.925	92.45±8.54	94.33±6.87	0.491
TK (mg/dl)	156.92±31.24	169.52±21.98	0.174	163.36±27.00	173.04±20.13	0.245
TRG (mg/dl)	72.33±18.88	105.17±42.82	0.017	73.45±11.03	105.17±38.18	0.011
HDL (mg/dl)	56.33±8.76	48.09±8.48	0.011	56.91±12.10	47.37±9.84	0.019
LDL (mg/dl)	91.93±41.62	100.50±23.06	0.436	92.91±28.49	103.53±22.91	0.247

KP, kronik periodontitis; S, periodontal yönden sağlıklı; VKİ, vücut kitle indeksi; AKŞ, açlık kan şekeri; TK, total kolesterol; TRG, trigliserit; HDL, yüksek densiteli lipoprotein; LDL, düşük densiteli lipoprotein

4.2. Çalışma Gruplarının Periodontal Durumlarının Karşılaştırılması

Çalışma grupları arasında Gİ, Pİ, SK%, CD ve KAS değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edildi. KP grubunda tüm periodontal parametreler S grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$) (Tablo 7). Gruplar cinsiyetlerine göre alt gruplara ayrıldığı zaman da hem kadınlarda hem de erkeklerde Gİ, Pİ, SK%, CD ve KAS değerleri KP grubunda S grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$) (Tablo 8).

Tablo 7: Çalışma gruplarının periodontal parametrelerinin karşılaştırılması

Grup (n)	S (35)	KP (35)	p değeri
Gİ	0.16±0.08	1.33±0.34	0.000
Pİ	0.23±0.09	2.10±0.65	0.000
SK%	6.91±5.77	93.75±11.04	0.000
CD	1.66±0.15	4.11±0.44	0.000
KAS	1.68±0.17	4.90±0.87	0.000

Gİ, gingival indeks; Pİ, plak indeksi; SK%, sondlamada kanama; CD, cep derinliği; KAS, klinik ataçman seviyesi

Tablo 8: Cinsiyete göre oluşturulan alt grupların gruplar arası periodontal parametrelerinin karşılaştırılması

Grup (n)	S_K (12)	KP_K (11)	p değeri	S_E (23)	KP_E (24)	p değeri
Gİ	0.15±0.06	1.26±0.34	0.000	0.17±0.09	1.36±0.34	0.000
Pİ	0.21±0.06	1.83±0.75	0.000	0.25±0.10	2.22±0.58	0.000
SK%	5.94±5.42	90.47±15.36	0.000	7.41±5.99	95.25±8.37	0.000
CD	1.64±0.15	3.86±0.42	0.000	1.67±0.15	4.23±0.41	0.000
KAS	1.66±0.15	4.36±0.56	0.000	1.70±0.18	5.14±0.88	0.000

S_K, periodontal sağlıklı kadın grubu; KP_K, kronik periodontitis kadın grubu; S_E, periodontal sağlıklı erkek grubu; KP_E, kronik periodontitis erkek grubu; Gİ, gingival indeks; Pİ, plak indeksi; SK%, sondlamada kanama; CD, cep derinliği; KAS, klinik ataçman seviyesi

Çalışma gruplarının grup içi periodontal parametrelerinin karşılaştırılması

Çalışma gruplarının grup içi periodontal parametreleri tablo 9'da gösterilmiştir. S grubunda periodontal parametreler açısından kadın ve erkekler arasında farklılık tespit edilmezken ($p>0.05$), KP grubunda erkeklerde CD ve KAS değerleri kadınlara kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$), ancak Gİ, Pİ, SK% açısından bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 9: Cinsiyete göre oluşturulan alt grupların grup içi periodontal parametrelerinin karşılaştırılması

Grup (n)	S		p değeri	KP		p değeri
	Kadın (12)	Erkek (23)		Kadın (11)	Erkek (24)	
Gİ	0.15±0.06	0.17±0.09	0.541	1.26±0.34	1.36±0.34	0.420
Pİ	0.21±0.06	0.25±0.10	0.222	1.83±0.75	2.23±0.58	0.101
SK%	5.94±5.42	7.41±5.99	0.484	90.47±15.36	95.25±8.37	0.239
CD	1.64±0.15	1.67±0.15	0.526	3.86±0.42	4.23±0.41	0.021
KAS	1.66±0.15	1.70±0.18	0.530	4.36±0.56	5.14±0.88	0.011

Gİ, gingival indeks; Pİ, plak indeksi; SK%, sondlamada kanama; CD, cep derinliği; KAS, klinik ataçman seviyesi

4.3. Çalışma Gruplarının Serum ALP, OSC, sRANKL, IL-1 β ve TNF- α Düzeylerinin Karşılaştırılması

Çalışma gruplarının serum ALP, OSC, sRANKL, IL-1 β ve TNF- α düzeyleri karşılaştırıldığında OSC'nin S grubunda KP grubuna göre, IL-1 β düzeyinin ise KP grubunda S grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptandı ($p<0.05$). Gruplar arasında ALP, sRANKL ve TNF- α düzeyleri açısından farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Cinsiyetlere göre oluşturulan alt gruplar karşılaştırıldığında, erkeklerde KP grubunda S grubuna göre OSC düzeyi daha düşük, IL-1 β düzeyi anlamlı derecede daha yüksekti ($p<0.05$). Kadınlarda ise değerlendirilen parametreler açısından KP ve S grupları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo 10).

Tablo 10: Çalışma gruplarının ve cinsiyete göre oluşturulan alt gruplarının serum ALP, OSC, sRANKL, IL-1 β ve TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması

Grup (n)		S (35)	KP (35)	p değeri
ALP	Grup	59.14 \pm 16.63	60.80 \pm 13.71	0.651
	Kadın	51.25 \pm 12.02	56.00 \pm 15.34	0.416
	Erkek	63.26 \pm 17.41	63.00 \pm 12.62	0.953
OSC	Grup	18.00 \pm 5.49	14.68 \pm 3.49	0.004
	Kadın	16.74 \pm 6.26	13.92 \pm 1.36	0.158
	Erkek	18.66 \pm 5.06	15.03 \pm 4.10	0.010
sRANKL	Grup	193.49 \pm 112.01	233.17 \pm 129.81	0.175
	Kadın	215.67 \pm 101.97	205.36 \pm 76.66	0.788
	Erkek	181.91 \pm 117.39	245.92 \pm 147.70	0.108
IL-1 β	Grup	77.49 \pm 87.09	163.13 \pm 190.02	0.016
	Kadın	81.37 \pm 65.25	110.00 \pm 101.36	0.426
	Erkek	75.46 \pm 85.34	187.48 \pm 216.66	0.025
TNF- α	Grup	1.11 \pm 0.77	1.55 \pm 1.50	0.125
	Kadın	1.18 \pm 0.66	0.98 \pm 0.89	0.549
	Erkek	1.07 \pm 0.83	1.81 \pm 1.67	0.062

ALP, alkalin fosfataz; OSC, osteokalsin; sRANKL, reseptör aktivatör nükleer faktör kappa-B; IL-1 β , interlökin-1 β ; TNF- α , tümör nekroz faktör- α

4.4. Çalışma Gruplarının Plazma Total ve Açıl Ghrelin Düzeylerinin Karşılaştırılması

Çalışma grupları arasında plazma total ve açıl ghrelin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edildi. KP grubunda S grubuna kıyasla hem total hem de açıl ghrelin düzeyleri daha yüksek bulundu ($p < 0.05$). Gruplar cinsiyete göre alt gruplara ayrıldığı zaman; kadınlarda total ghrelin KP grubunda S grubuna kıyasla daha yüksek, açıl ghrelin düzeyi ise daha düşük bulundu, ancak bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yaratmadı ($p > 0.05$). Erkeklerde

ise KP grubunda S grubuna göre hem total hem de açil ghrelin düzeyleri anlamlı derecede yüksek saptandı ($p<0.05$) (Tablo 11).

Tablo 11: Çalışma gruplarının ve cinsiyete göre oluşturulan alt gruplarının plazma total ve açil ghrelin düzeylerinin karşılaştırılması

Grup (n)		S (35)	KP (35)	p değeri
Total ghrelin	Grup	391.29±212.30	514.61±297.96	0.050
	Kadın	482.07±204.54	502.46±341.48	0.862
	Erkek	343.93±204.69	520.18±283.62	0.019
Açil ghrelin	Grup	158.12±74.36	197.54±71.25	0.027
	Kadın	187.69±66.14	165.60±55.21	0.397
	Erkek	142.69±75.05	212.19±73.95	0.003

Çalışma gruplarının grup içi plazma total ve açil ghrelin düzeylerinin karşılaştırılması

Çalışma grupları kendi içerisinde cinsiyete göre karşılaştırıldıkları zaman S grubunda total ve açil ghrelin düzeylerinin kadınlarda erkeklerden daha yüksek, KP grubunda ise tam tersi hem total hem de açil ghrelin düzeylerinin erkeklerde kadınlardan daha yüksek olduğu gözlemlendi. Ancak bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ($p>0.05$) (Tablo 12).

Tablo 12: Cinsiyete göre oluşturulan alt grupların grup içi plazma total ve açil ghrelin düzeylerinin karşılaştırılması

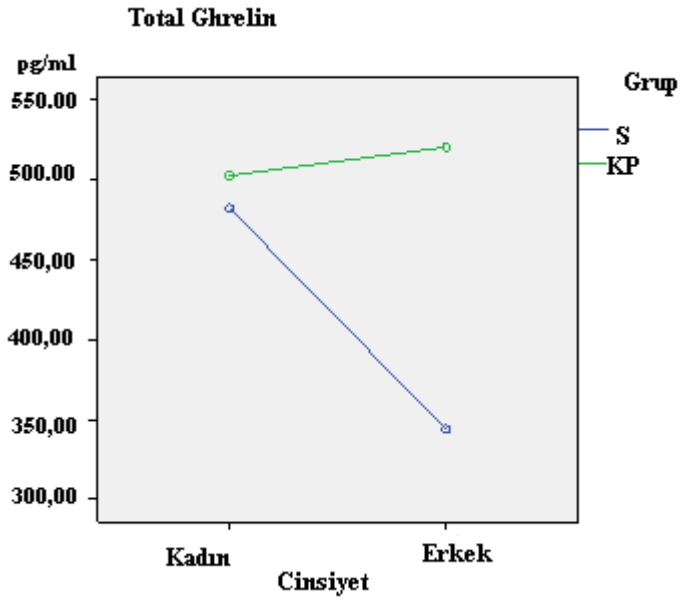
Grup (n)	S		p değeri	KP		p değeri
	Kadın (12)	Erkek (23)		Kadın (11)	Erkek (24)	
Total ghrelin	482.07±204.54	343.93±204.69	0.067	502.46±341.48	520.18±283.62	0.873
Açil ghrelin	187.69±66.14	142.69±75.05	0.089	165.60±55.21	212.19±73.95	0.072

İki değişkenli faktöriyel düzeltme

Total ve açıl ghrelın düzeylerinin hem cinsiyete hem de periodontal duruma göre değişiklik göstermesi nedeniyle, cinsiyetlerin değerlendirilen parametreler üzerine etkisi iki faktörlü faktöriyel düzeltme analizi ile test edildi. Bu analize göre total ghrelın için cinsiyet ve grup arasındaki etkileşim istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa neden olmazken ($p>0.05$) (Tablo 13) (Şekil 4), açıl ghrelın için bu birlikteliğin anlamlı farklılığa neden olduğu tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 14) (Şekil 5).

Tablo 13: Grup ve cinsiyetin birlikte varlığının total ghrelın düzeyine etkisinin değerlendirilmesi

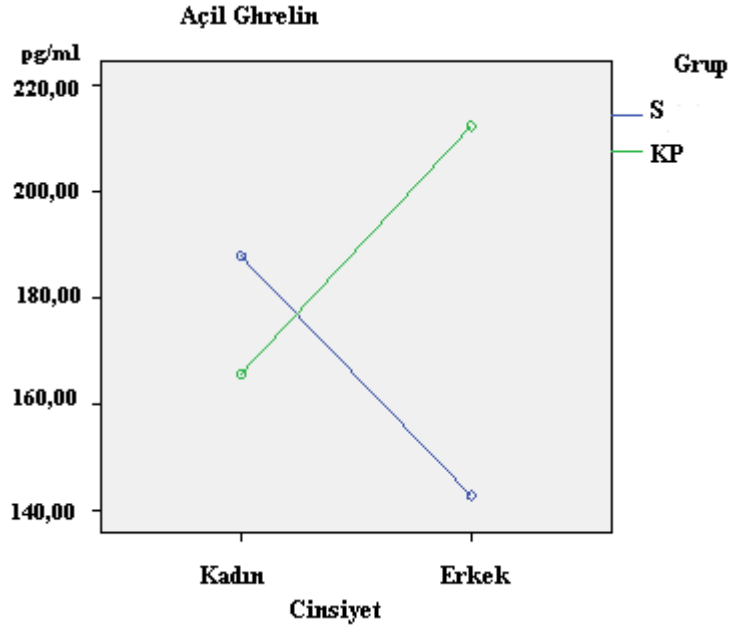
Değişken		Ortalama	Standart sapma	%95 güven aralığı		p değeri
Cinsiyet	Grup			Alt sınır	Üst sınır	
Kadın	-	492.27	53.88	384.70	599.84	0.363
Erkek	-	432.05	37.66	356.86	507.25	
-	S	413.00	45.96	321.23	504.27	0.139
-	KP	511.32	47.00	417.49	605.15	
Kadın	S	482.07	74.52	333.29	630.86	0.240
	KP	502.46	77.83	347.06	657.86	
Erkek	S	343.92	53.83	236.46	451.39	0.240
	KP	520.18	52.69	414.98	625.39	



Şekil 4: Grup ve cinsiyetin birlikte varlığının total ghrelin düzeyine etkisi

Tablo 14: Grup ve cinsiyetin birlikte varlığının açıl ghrelin düzeyine etkisinin değerlendirilmesi

Değişken		Ortalama	Standart sapma	%95 güven aralığı		p değeri
Cinsiyet	Grup			Alt sınır	Üst sınır	
Kadın	-	176.64	14.72	147.25	206.03	0.965
Erkek	-	177.44	10.29	156.89	197.98	
-	S	165.19	12.56	140.12	190.26	0.191
-	KP	188.89	12.84	163.26	214.53	
Kadın	S	187.69	20.36	147.04	228.34	0.013
	KP	165.60	21.26	123.14	208.06	
Erkek	S	142.69	14.71	113.33	172.05	0.013
	KP	212.19	14.40	183.44	240.93	



Şekil 5: Grup ve cinsiyetin birlikte varlığının açıl ghrelin düzeyine etkisi

Ki-kare testi ve risk değerlendirmesi

Tüm bireylerin medyan total ve açıl ghrelin seviyeleri eşik değer kabul edilerek çalışmaya dahil edilen bireyler iki gruba ayrıldı. Bağımlı değişken olarak total veya açıl ghrelin seviyesi, bağımsız değişken olarak periodontal durum seçilerek ki-kare testi ve risk değerlendirmesi yapıldı.

Kronik periodontitis varlığında total ghrelin düzeyinde önemli artış meydana geldiği tespit edildi (OR, 1,78; %95 CI, 0,70-4,49) (Tablo 15). Total ghreline benzer şekilde kronik periodontitis varlığının açıl ghrelin düzeyinde de önemli artışa neden olduğu bulundu (OR, 2,25; %95 CI, 0,87-5,86) (Tablo 16).

Tablo 15: Periodontal durum ve artmış total ghrelin düzeyi arasındaki ilişkinin ki-kare testi ve risk değerlendirmesi

Bağımsız değişken	Total ghrelin		p değeri*	Odds Ration (OR)† (%95 CI)
	<367.4	≥367.4		
Periodontal durum				
S	20 (57.1)	15 (42.9)	0.232	1
KP	15 (42.9)	20 (57.1)		1.78 (0.70-4.58)

* ki-kare testi

† risk değerlendirmesinin Odds ratio değerleri

Tablo 16: Periodontal durum ve artmış açıl ghrelin düzeyi arasındaki ilişkinin ki-kare testi ve risk değerlendirmesi

Bağımsız değişken	Açıl ghrelin		p değeri*	Odds Ration (OR)† (%95 CI)
	<166.9	≥166.9		
Periodontal durum				
S	21 (60.0)	14 (40.0)	0.094	1
KP	14 (40.0)	21 (60.0)		2.25 (0.87-5.86)

* ki-kare testi

† risk değerlendirmesinin Odds Ratio değerleri

4.5. Korelasyonlar

S grubu

S grubunda ALP ile SK% arasında ($p<0.05$), total ghrelin ile TNF- α arasında ($p<0.05$) ve açıl ghrelinle total ghrelin ($p<0.01$) ve TNF- α arasında ($p<0.01$) pozitif korelasyonlar gözlemlendi. IL-1 β ve sRANKL arasında negatif korelasyon saptandı ($p<0.05$). S grubu cinsiyete göre alt gruplara ayrıldığı zaman kadınlarda açıl ghrelin ile TNF- α arasında pozitif korelasyon tespit edildi ($p<0.05$). Erkeklerde ise total ghrelin ile TNF- α ($p<0.05$) ve açıl ghrelin arasında ($p<0.01$) pozitif korelasyonlar izlendi (Tablo 17).

Tablo 17: S grubunda ve cinsiyete göre oluşturulan alt gruplarında periodontal parametrelerle kan parametreleri arasındaki korelasyonlar

	Korelasyonlar	r	p
GRUP (n=35)	ALP-SK%	0.353*	0.037
	IL-1 β -sRANKL	-0.349*	0.040
	Total Ghrelin-TNF- α	0.352*	0.038
	Açıl Ghrelin-TNF- α	0.452†	0.006
	Açıl Ghrelin-Total Ghrelin	0.701†	0.000
KADIN (n=12)	Açıl Ghrelin-TNF- α	0.622*	0.031
ERKEK (n=23)	Total Ghrelin- TNF- α	0.441*	0.035
	Açıl Ghrelin-Total Ghrelin	0.863†	0.000

* p<0.05'e göre istatistiksel anlamlı farklılık

† p<0.01'e göre istatistiksel anlamlı farklılık

KP grubu

KP grubunda sRANKL ile Gİ arasında (p<0.01), ALP ile TNF- α ve total ghrelin arasında (p<0.05) ve açıl ghrelinle total ghrelin arasında pozitif korelasyonlar saptandı (p<0.05). Kadınlarda total ghrelinin Pİ (p<0.01) ve CD (p<0.05) ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edildi. Açıl ghrelinle Gİ arasında da negatif yönde korelasyon izlendi (p<0.05). Total ghrelin ile ALP arasında ise pozitif korelasyon izlendi (p<0.05). Erkeklerde ise sRANKL ile Gİ arasında pozitif korelasyon gözlemlendi (p<0.01) (Tablo 18).

Tablo 18: KP grubunda ve cinsiyete göre oluşturulan alt gruplarında periodontal parametrelerle kan parametreleri arasındaki korelasyonlar

	Korelasyonlar	r	p
GRUP (n=35)	sRANKL-Gİ	0.530†	0.001
	TNF- α -ALP	0.347*	0.041
	Total Ghrelin-ALP	0.352*	0.038
	Açıl Ghrelin-Total Ghrelin	0.347*	0.041
KADIN (n=11)	Total Ghrelin-Pİ	-0.778†	0.005
	Total Ghrelin-CD	-0.661*	0.027
	Açıl Ghrelin-Gİ	-0.652*	0.030
	Total Ghrelin-ALP	0.604*	0.049
ERKEK (n=24)	sRANKL-Gİ	0.645†	0.001

* $p < 0.05$ 'e göre istatistiksel anlamlı farklılık

† $p < 0.01$ 'e göre istatistiksel anlamlı farklılık

5. TARTIŞMA

Periodontitis gingival alanda kolonize olan bir grup Gram (-) bakterinin neden olduğu, bağ doku ve alveoler kemik yıkımıyla karakterize kronik enflamatuvar bir hastalıktır (Loesche and Grossman 2001, Buhlin et al., 2009). Periodontitiste bakteri veya bakteri ürünlerinin kan dolaşımına geçmesinin kronik enflamatuvar durumun indüklenmesinde ve devamlılığında rol oynadığı düşünülmektedir (Buhlin et al., 2009). Son yıllarda periferel kanın hücresele ve moleküler komponentlerindeki değişikliklerin periodontitis varlığından nasıl etkilendiğine yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda periodontitisli hastalarda lokal olarak üretilen IL-1 β , TNF- α ve IL-6 gibi proenflamatuvar mediyatörlerin dolaşıma geçerek sistemik düzeyde bir etki yarattığı tespit edilmiştir (Gemmell et al., 1997, Loos et al., 2000, Loos 2005).

IL-1 β hücre metabolizması üzerinde, immün ve enflamatuvar reaksiyonlarda, lokal ve sistemik etkileri olan proenflamatuvar bir sitokindir (Abbas et al., 2000c, Delaleu and Bickel 2004). Periodontal literatürde periodontitisin başlamasında ve ilerlemesinde pleotropik rolü nedeniyle sıklıkla IL-1 β üzerinde durulmaktadır (Goutoudi et al., 2004, Orozco et al., 2006). IL-1 β , enflamatuvar hücrelerin enfeksiyon alanına göçü, enflamatuvar mediyatörlerin ve MMP'lerin sentezinin artması, kolajen sentezinin inhibisyonu ve T ve B lenfositlerin aktivasyonu gibi reaksiyonlarda rol oynar (Delaleu and Bickel 2004). Osteoklast prekürsör hücrelerinin farklılaşmasını ve takiben osteoklastları uyararak kemik rezorpsiyonunu indükler (Iacopino and Cutler 2000, Beklen et al., 2007, Liu et al., 2010).

Literatürde periodontal hastalıkta IL-1 β 'nın serum düzeyini değerlendiren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların bir kısmında IL-1 β 'nın serum düzeyinin periodontal hastalık varlığından etkilenmediği bildirilmiştir (Mengel et al., 2002, Orozco et al., 2006, Ma et al., 2010). Vardar-Sengul et al. (2006) ve Ma et al. (2010) ratlarda deneysel periodontitisin serum IL-1 β düzeyinde anlamlı bir artışa neden olmadığını göstermişlerdir. Chen et al. (1997), Mengel et al. (2002) ve Orozco et al. (2006) periodontitisli bireylerde serum IL-1 β düzeylerinin periodontal sağlıklı bireylere benzer olduğunu bildirmişlerdir.

Bazı çalışmalarda ise periodontitisin IL-1 β düzeyinde artışa neden olduğu rapor edilmiştir (Gorska et al., 2003, Trombone et al., 2009). Gorska et al. (2003) şiddetli kronik periodontitisi olan hastalarda serum IL-1 β düzeyinin periodontal sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek olduğunu, ancak serum IL-1 β düzeyinin klinik parametrelerle ilişkili olmadığını belirtmişlerdir. Periodontal yönden sağlıklı bireylerden alınan kan örneklerinin düşük doz *A.actinomycescomitans* ile muamelesi serum IL-1 β düzeyinde anlamlı bir artışa neden olmuştur (Nakamura et al., 2004). Bir başka çalışmada deneysel periodontitis oluşturulan farelerde, maksimum enflamatuvar reaksiyonda, serum IL-1 β , TNF- α ve IL-17 düzeyleri daha yüksek bulunmuş ve enflamatuvar immün reaksiyonların deneysel periodontitisin şiddetiyle ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Trombone et al., 2009). Periodontitisli bireylerde DOS ve dişetinde IL-1 β düzeyi sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek bulunmuş ve IL-1 β miktarı ile periodontal hastalık şiddeti arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (Tokoro et al., 1996, Ishihara et al., 1997, Goutoudi et al., 2004, Orozco et al., 2006, Yucel et al., 2008). Ayrıca akut koroner sendrom, hiperlipidemi ve obezite gibi sistemik hastalıklar ile periodontitis birlikteliği, klinik periodontal parametrelerle ilişkili olarak serum IL-1 β düzeyini daha fazla arttırmaktadır (Iacopino and Cutler 2000, Czerniuk et al., 2004, Fentoglu et al., 2011, Zuza et al., 2011).

Çalışmamızda Gorska et al. (2003)'ın çalışmasına benzer şekilde KP grubunda S grubuna göre serum IL-1 β düzeyi daha yüksek bulundu. Gruplar cinsiyete göre karşılaştırıldıklarında ise sadece erkekler grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Bu durum erkek bireylerde CD ve KAS değerlerinin kadınlara kıyasla daha yüksek olmasıyla ilişkilendirilebilir. Ancak KP grubunda periodontal parametrelerle serum IL-1 β düzeyi arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmedi.

Periodontal hastalık patogenezinde IL-1 β ile birlikte üzerinde en fazla çalışılan sitokinlerden bir diğeri TNF- α 'dır. TNF- α , farklı hücre grupları üzerine geniş proenflamatuvar ve immünomodülatör etkileri olan bir sitokindir. Periodontitis patogenezinde hem bağ doku hem de alveoler kemik yıkımında rol oynar (Katz et al., 2001, Erdemir et al., 2004, Kantarci et al., 2006, Cochran 2008). TNF- α 'nın kolajenazların, prostaglandinlerin, IL-6 gibi sitokinlerin, hücre adezyon

moleküllerinin ve RANKL, M-CSF gibi kemik yıkımıyla ilişkili faktörlerin üretimini arttırmak yoluyla periodontal hastalık patogenezinin katıldığı bildirilmektedir (Iacopino and Cutler 2000, Boyce et al., 2005, Duarte et al., 2010).

Kronik periodontitisli bireylerde serum TNF- α düzeyindeki değişikliklere yönelik farklı sonuçlar rapor edilmiştir. Gorska et al. (2003) ve Bretz et al. (2005) çalışmalarında serum TNF- α düzeyinin kronik periodontitis hastalarında daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada da periodontitisli bireylerde serum TNF- α düzeyindeki artışın dental plaktaki *P.gingivalis* yoğunluğuyla ilişkili olduğu bulunmuştur (Andrukhov et al., 2011). Periodontitisli alanlardan alınan DOS ve dişeti örneklerinde de TNF- α miktarının daha yüksek olduğu saptanmıştır (Assuma et al., 1998, Graves et al., 1998, Gorska et al., 2003). Ayrıca sistemik hastalıklar (koroner arter hastalığı, RA gibi) ile periodontitisin birlikteliğinde serum TNF- α düzeylerinin bazı periodontal parametrelerle ilişkili olarak daha yüksek olduğu rapor edilmektedir (Chen et al., 2008b, Kobayashi et al., 2010).

Yukarıdaki çalışmaların aksine Ikezawa et al. (2005), Buhlin et al. (2009) ve Duarte et al. (2010) periodontal sağlıklı bireylerle kıyaslandığında serum TNF- α düzeylerinin kronik periodontitise bağlı olarak değişmediğini rapor etmişlerdir. Kronik periodontitisli bireylerde periodontal tedavinin serum sitokin düzeyleri üzerine etkisi değerlendirildiğinde de periodontal sağlıklı ile periodontitis grupları arasında başlangıç veya tedavi sonrası serum TNF- α düzeylerinde farklılık bulunmadığı rapor edilmiştir (Yamazaki et al., 2005). Nakajima et al. (2010) ise kronik periodontitisli bireylerde serum TNF- α düzeyinin daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda Ikezawa et al. (2005), Buhlin et al. (2009) ve Duarte et al. (2010)'ın bulgularıyla uyumlu olarak serum TNF- α düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi.

Periodontitiste IL-1, IL-6, IL-17 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokin düzeylerinde meydana gelen artışın aynı zamanda RANKL üretimini indükleyerek osteoklastogenezisi arttırdığı ve bu yolla da alveoler kemik yıkımına neden olduğu tespit edilmiştir (Suda et al., 1999, Kawai et al., 2006, Nagasawa et al., 2007).

RANKL, TNF ligand ailesinin bir üyesidir ve osteoblastlardan, periodontal fibroblastlardan ve aktive olmuş T ve B hücrelerinden salınır (Belibasakis et al.,

2007, Belibasakis et al., 2010). Çeşitli sistemik hormonlar, lokal enflamatuvar sitokinler ve bakteriyel ürünler tarafından RANKL üretiminin stimüle edildiği rapor edilmiştir (Rogers and Eastell 2005, Belibasakis et al., 2010).

Yapılan çalışmalarda RANKL'ın periodontal hastalıkta önemli rol oynadığı tespit edilmiştir (Bostanci et al., 2007a, Bostanci et al., 2007b). Belibasakis et al. (2007) insan periodontal ligament ve gingival fibroblast hücrelerinde *P.gingivalis*'in RANKL mRNA üretimini arttırdığını ve OPG mRNA üretimini baskıladığını belirtmişlerdir. Bir başka çalışmada da dişetinde, sağlıklıya kıyasla periodontal hastalık varlığında sRANKL üretiminin arttığı bulunmuştur (Kawai et al., 2006).

Periodontitisli bireylerden alınan DOS örneklerinde de RANKL konsantrasyonunun arttığı, buna karşın OPG üretiminin azaldığı tespit edilmiştir. Ancak RANKL ve OPG konsantrasyonları ile periodontal hastalık şiddeti ve klinik periodontal parametreler arasında bir korelasyon gözlenmemiştir (Mogi et al., 2004). Bostanci et al. (2007a)'nın çalışmalarında DOS'ta periodontitisli bireylerde RANKL ve RANKL/OPG oranının periodontal sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek olduğu rapor edilmiştir.

Jabbar et al. (2011) postmenopozal osteoporozu olan periodontitisli kadınlarda RANKL ve OPG düzeylerini değerlendirdikleri çalışmalarında, aktif periodontal hastalığı olanlarda geçirilmiş periodontal hastalığı olan bireylere kıyasla serum RANKL, OPG ve C-terminal polipeptid düzeylerinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Sigara içen, kronik periodontitisli hastalarda periodontal sağlıklılara kıyasla plazma sRANKL düzeylerinde farklılık yokken, OPG düzeyleri daha düşük, sRANKL/OPG oranı ise daha yüksek bulunmuştur (Ozcaka et al., 2010). Lappin et al. (2009) çalışmalarında plazma RANKL düzeylerinin periodontitisli bireylerle periodontal sağlıklı bireyler arasında benzer olduğunu, ancak RANKL ve RANKL/OPG oranının ICTP (pyridinoline cross-linked carboxy-terminal telopeptide of type I collagen) ile pozitif korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Ernst et al. (2007) ve Dutzan et al. (2009) periodontitisli bireylerden alınan dişeti örneklerinde sRANKL ile IL-1 β arasında pozitif yönde bir korelasyon olduğunu saptamışlardır.

Çalışmamızda serum sRANKL düzeyi KP grubu ile S grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi. Ayrıca sRANKL ile değerlendirilen sitokin ve kemik yapım parametreleri arasında bir ilişki saptanmadı. Bununla birlikte

KP grubunda sRANKL ile Gİ arasında pozitif korelasyon gözlemlendi. Bu bulgu enflamasyonun şiddetine bağlı olarak sRANKL düzeyinin artabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda sRANKL ile birlikte OPG düzeyinin değerlendirilmemiş olması kronik periodontitis varlığında RANKL/OPG oranına ilişkin bir yoruma engel olmaktadır.

Kemik yapım ve yıkımının değerlendirilmesinde osteoblast fonksiyonunun spesifik belirteçlerinden birisi OSC'dir. Serum OSC konsantrasyonu eğer yapım ve yıkım dengede ise kemik turnoverının, dengede değil ise kemik yapımının geçerli bir belirteci olarak kabul edilmektedir (Giannobile et al., 2003). Bu proteinin serum seviyesi çeşitli metabolik hastalıkların değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Roach 1994, Giannobile et al., 1995, Bullon et al., 2005, Caetano-Lopes et al., 2007). OSC'nin obezite ve tip 2 diyabet gelişimine karşı koruyucu rol oynadığı ileri sürülmektedir (Ferron et al., 2008, Pittas et al., 2009). Tip 2 diyabette OSC düzeyinin daha düşük olduğu ve kemik turnoverının azaldığı bildirilmiştir (Akin et al., 2003, Achemlal et al., 2005, Bao et al., 2011b). Ayrıca serum OSC düzeyi metabolik sendromda komponent sayısının artışı ve koroner arter hastalığının varlığı ile negatif yönde ilişkili bulunmuştur (Bao et al., 2011a). Verbruggen et al. (1999) ise RA hastalarında plazma OSC düzeyinin IL-1 β , IL-6 ve TNF- α ile pozitif yönde korelasyon gösterdiğini bulmuşlar ve bu durumu aktif RA hastalarında daha belirgin osteoporoz varlığıyla ilişkilendirmişlerdir.

Periodontitisli bireylerde serum OSC düzeylerinin değerlendirildiği çalışmalarda genel olarak periodontitis varlığında serum OSC düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir (Buduneli et al., 2005, Liu et al., 2009). Ayrıca OSC'nin periodontitisin şiddeti ile negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Lappin et al., 2009). Buduneli et al. (2005) ratlarda yaptıkları deneysel periodontitis modelinde doksisisiklinle kombine alendronate uygulamasının LPS ile indüklenmiş alveolar kemik rezorpsiyonunu baskıladığını ve serum OSC düzeyini arttırdığını tespit etmişlerdir. Serum OSC düzeyindeki artışı kemik remodeling artışının ve baskılanmış alveolar kemik yıkımının bir işareti olarak yorumlamışlardır. Periodontitisli bireylerde DOS OSC düzeyleri değerlendirildiğinde ise OSC'nin hastalık varlığıyla ve klinik bulgularıyla ilişkili olduğunu belirten çalışmaların yanı sıra (Nakashima et al., 1994, Bullon et al., 2005), OSC'nin hastalık varlığını veya

aktif/inaktif alanları değerlendirmede tek başına yeterli olmadığını rapor eden çalışmalar da mevcuttur (Nakashima et al., 1996, Wilson et al., 2003).

Çalışmamızda periodontal sağlıklı bireylere kıyasla periodontitisli bireylerde serum OSC düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktü. Bu durum periodontitisin tabiatıyla ilişkilendirildiğinde, kemik yıkımında artışın yanı sıra kemik yapımında da azalma olabileceğini düşündürmektedir. OSC düzeyleri gruplar cinsiyete göre karşılaştırıldığı zaman sadece erkek grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi. Kronik periodontitis varlığında hem kadınlarda hem de erkeklerde OSC düzeylerinde azalma olmakla birlikte, erkeklerde istatistiksel anlamlı farklılık bulunması, erkek bireylerin CD ve KAS değerlerinin kadınlardan daha yüksek olmasıyla ilişkilendirilebilir. Ancak OSC ile periodontal hastalığın klinik parametreleri ve sitokinler arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı.

Kemik yapımını değerlendirmede kullanılan bir diğer parametre ALP aktivitesinin ölçülmesidir. ALP, PMNL, osteoblast, makrofaj ve fibroblast gibi birçok farklı hücre grubundan üretilen membran bağlı bir glikoproteindir (Chapple et al., 1999). Kemik siklusunun yapım fazında çok yüksek miktarlarda üretilir ve bu yüzden kemik yapımının önemli bir göstergesi olarak kabul edilir (Christenson 1997).

Birçok çalışmada periodontal durum ve hastalık aktivitesi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde DOS ALP düzeyi dikkate alınmıştır (Nakashima et al., 1994, Nakashima et al., 1996, Chapple et al., 1999, Daltaban et al., 2006, Perinetti et al., 2008). Periodontal hastalık aktivitesi, periodontal cep derinliği artışı ve ataçman kaybı ile ALP konsantrasyonu arasında pozitif ilişki rapor edilmiştir (Nakashima et al., 1996, Chapple et al., 1999, Daltaban et al., 2006). Ayrıca periodontal hastalığı olan bireylerde salya ALP düzeyi alveoler kemik kaybıyla ilişkili olarak, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (Totan et al., 2006). Perozini et al. (2010) ise kronik periodontitisli bireylerde DOS ALP ve IL-1 β düzeylerinde önemli bir artış görülmekle birlikte, ALP ile IL-1 β arasında bir korelasyon olmadığını rapor etmişlerdir.

Gibert et al. (2003) kronik periodontitisli bireylerde serum ALP düzeylerini değerlendirmiş, ALP'nin kemiğe spesifik formunun periodontal hastalıkta gözlenen ataçman kaybı ile negatif yönde ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Ratlarda yapılan

bir deneysel periodontitis çalışmasında ise serum ALP seviyesinin periodontitis grubunda daha yüksek olduğu bulunmuştur (Allam et al., 2010). Surna et al. (2008) periodontal hastalığı olan bireylerin periferik venöz kan ALP düzeyinin periodontal sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Von Wowern et al. (2001) ise şiddetli periodontitisi olan genç erişkinlerde serum ALP düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı farklılık göstermediğini rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Unsal et al. (2008) periodontitisi olan erkek hastalarda serum ALP düzeyinin kontrol grubu ile benzer seviyede olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda da serum ALP düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi. Ancak KP grubunda ALP'nin TNF- α ile pozitif yönde korelasyon gösterdiği bulundu. ALP osteoblastların yanı sıra enflamasyon sırasında PMNL ve makrofajlardan da üretilen bir enzimdir (Chapple et al., 1999). ALP ile TNF- α arasında gözlenen korelasyon kronik periodontitise bağlı enflamasyon ile ilişkilendirilebilir. Bununla birlikte KP grubunda ALP ile klinik periodontal parametreler arasında herhangi bir korelasyon bulunmadı.

Çalışmamızda kronik periodontitiste plazma total ve açil ghrelin düzeyleri belirlenirken, periodontal hastalığın klinik bulguları, kronik periodontitis patogenezinde rol alan proenflamatuvar sitokinler ve sRANKL ile ilişkilerinin değerlendirilmesi de amaçlandı. Ayrıca ghrelin düzeylerinin kemik metabolizmasının yapısına yönelik belirteçlerinden ALP ve OSC ile ilişkisi de değerlendirildi.

Ghrelin enerji dengesinin düzenlenmesi, açlığın kontrolü, gastrik asit sekresyonu gibi çeşitli metabolik fonksiyonlarının yanı sıra immün sistem ve kemik metabolizması üzerine de etkileri olan bir hormondur (Hattori et al., 2001, Dixit and Taub 2005, Fukushima et al., 2005).

Ghrelinin enflamatuvar hücre çoğalmasını ve kemotaktik ve proenflamatuvar sitokin üretimini baskılayıcı yönde aktivite gösterdiği bulunmuştur (Dixit et al., 2004, Li et al., 2004, Xia et al., 2004, Dixit and Taub 2005). Bu anti-enflamatuvar aktivitesi ghrelinin kronik enflamatuvar hastalık patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (St-Pierre et al., 2007a, Hattori 2009, Kellokoski et al., 2009b).

Çeşitli çalışmalarda akut ve kronik enflamasyon varlığında kan ghrelin düzeyinin değiştiği rapor edilmiştir. Bazı çalışmalarda dolaşımdaki ghrelin düzeylerinin metabolik sendrom, obezite ve tip 2 diyabet gibi hastalıklarda azaldığı

ortaya konmuştur (Muccioli et al., 2002, Shiiya et al., 2002, Suematsu et al., 2005, Ingelsson et al., 2008, Yada et al., 2008). Hataya et al. (2003) çalışmalarında LPS verilmesini takiben erken dönemde ghrelin düzeyinde azalma gözlenmesine rağmen, tekrarlayan LPS uygulamasının ghrelin düzeyinde artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca ankilozan spondilit, enflamatuvar bağırsak hastalığı, çölyak hastalığı gibi enflamatuvar hastalıklarda ghrelin seviyesinin arttığı rapor edilmiştir (Toussiro et al., 2007, Karmiris et al., 2008, Katergari et al., 2008, Hattori 2009). Poykko et al. (2006) plazma ghrelin seviyesinin erken dönem aterosklerozla pozitif yönde ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Dolaşımdaki ghrelin düzeyi enflamasyondan ve sitokin üretiminden etkilenmekle birlikte, enflamasyonun derecesinin ve/veya hastalık ilerleme safhasının ghrelin düzeyini nasıl etkilediği henüz bilinmemektedir. İlâveten, çalışmaların çoğunda sadece dolaşımdaki total ghrelin düzeyi değerlendirilmiş, hasta ve kontrol grupları arasında açıl veya desaçil ghrelin düzeylerine yönelik bir ayırım yapılmamıştır (Baatar et al., 2011). Ghrelinin n-oktanilasyonu ile açıl ghrelin oluşur. Bu reaksiyon hormonun antienflamatuvar aktivite göstermesi açısından önem taşır (Li et al., 2004). Bu nedenle çalışmamızda total ghrelinin yanı sıra açıl ghrelin düzeyi de değerlendirilmiştir.

Literatürde genel kanı ghrelinin enflamasyonla birlikte arttığı yönündedir. Serum/plazma ghrelin salımındaki artışın hastalık şiddetiyle paralel olduğu ve ghrelin seviyesinin proenflamatuvar sitokinlerle, özellikle enflamasyonun klasik belirteçleri olan TNF- α , IL-6 ve IL-1 β ile pozitif yönde korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Smith et al., 2005, Hattori 2009, Baatar et al., 2011). Zhao et al. (2006) deneysel kolit modelinde, ghrelinin kolon epitel hücrelerinde NF- κ B yolunu aktive ederek ve güçlü bir kemoatraktan olan IL-8 sekresyonunu arttırarak proenflamatuvar cevabı arttırdığını rapor etmişlerdir. Sung et al. (2010) da fizyolojik konsantrasyondaki açıl ghrelinin B lenfosit hücrelerinde NF- κ B aktivasyonunu arttırarak enflamasyonun indüklenmesinde aktivite gösterdiği sonucuna varmışlardır.

Literatürdeki bazı çalışmalarda ise ghrelinin antienflamatuvar aktivitesi rapor edilmiştir (Dixit et al., 2004, Li et al., 2004, Wu et al., 2005, Waseem et al., 2008, Chow et al., 2009). Shimizu et al. (2003) rat endotel hücrelerinde ghrelin enjeksiyonunun endotelial disfonksiyonu iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Benzer

şekilde Chow et al. (2009) da insan vasküler düz kas ve endotel hücrelerinde ghrelinin LPS'ye karşı antienflamatuvar aktivite gösterdiğini saptamışlardır. Ratlarda eksojen ghrelin verilmesinin proenflamatuvar sitokinlerin yanı sıra MMP'lerin salımını da baskılayarak miyokardiyal enfarktüs sonrası kardiyak fonksiyonları iyileştirdiği gözlenmiştir (Huang et al., 2009). Hou et al. (2009) da insan akciğer epitel hücrelerinde ghrelinin hidrojen peroksit ile indüklenmiş IL-8 üretimini azalttığını göstermişlerdir. Waseem et al. (2008) eksojen ghrelin uygulamasının makrofajlarda IL-1 β ve TNF- α üretimini baskıladığını, diğer taraftan IL-10 üretimini arttırdığını rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada da T hücrelerinin ghrelinle stimülasyonu sonucu IL-4 ve IL-13 protein seviyelerinde artış meydana geldiği gözlenmiştir (Hosomi et al., 2008).

Mevcut bilgilerimize göre bu çalışma kronik periodontitisli bireylerde dolaşımdaki total ve açıl ghrelin düzeylerinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Çalışmamızda kronik periodontitisi olan bireylerde hem total hem de açıl ghrelin düzeyleri periodontal sağlıklı bireylere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek saptandı. Bağımsız değişken olarak kronik periodontitisin total ve açıl ghrelin düzeyleri üzerine etkisini analiz ettiğimizde de kronik periodontitis varlığının total ghrelin düzeyindeki artış için Odds Ratio değeri 1,78, açıl ghrelin için 2,25 bulundu. Bu bulgu plazma ghrelin düzeylerinin periodontal hastalık varlığından etkilendiğini göstermektedir. Periodontitisli bireylerde meydana gelen plazma total ve açıl ghrelin düzeylerindeki artış, periodontal hastalığa bağlı immünoenflamatuvar aktivitenin persiste kalmasıyla ilişkili gözükmektedir. Yapılan çalışmalarda ghrelinin farklı doku ve organlarda farklı etki gösterdiğinin rapor edilmesi, ghrelin aktivitesinin etki ettiği hücreye özgü olduğu düşüncesini doğrulamaktadır (Zhao et al., 2006, Shimizu et al., 2003, Chow et al., 2009). Dolayısıyla periodontitisli bireylerde, sistemik olarak ghrelin düzeylerinin belirlenmesinin yanı sıra dişetinde de ghrelin bulunup bulunmadığının, eğer var ise enflamasyonda doku düzeyinin tespit edilmesi, periodontal hastalık patogenezinde bu hormonun rolünü değerlendirmek açısından anlamlı olacaktır.

Enflamasyon sırasında salınan proenflamatuvar sitokinlerin ghrelin salımını arttırabileceği düşünülmektedir (Kishimoto et al., 2003, Zhao et al., 2006). Mafra et al. (2011) serum total ghrelin konsantrasyonunun TNF- α ve IL-6 ile pozitif yönde

korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Sung et al. (2009) da TNF- α seviyesindeki sistemik değişikliklerin dolaşımdaki ghrelin düzeylerinde değişikliklere neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Himmerich and Sheldrick (2010) ise immün modülasyonda ghrelinin TNF- α ile karşıt yönde fonksiyon aldığını ileri sürmüşlerdir. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan bireylerde total ghrelin konsantrasyonu TNF- α ve CRP ile negatif yönde ilişkili bulunmuştur (Luo et al., 2005). Kodama et al. (2008) da kronik respiratuvar hastalığı olan bireylerde ghrelin enjeksiyonunu takiben nötrofil akümülyasyonunun baskılandığını ve miyeloperoksidaz enzimi, IL-8 ve TNF- α seviyelerinde azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Koca et al. (2008) ise RA hastalarında dolaşımdaki total ve açıl ghrelin seviyelerinin hastalık aktivitesinin klinik ve laboratuvar parametreleri ile korelasyon göstermediğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda kronik periodontitisli bireylerde hem total hem de açıl ghrelin ile proenflamatuvar sitokinler ve klinik periodontal parametreler arasında herhangi bir korelasyon bulunmadı.

Ghrelin immün sistemin yanı sıra kemik metabolizması ile de ilişkili bir hormondur. Ghrelinin ve BHS-R1'in rat osteoblastlarında tespit edilmesi, osteoblastların ghrelin sinyaline duyarlı olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda ghrelinin direkt olarak osteoblastların çoğalmasını ve farklılaşmasını uyardığı rapor edilmiştir. Aynı zamanda ghrelinin ALP ve OSC gen transkripsiyonunu da arttırdığı gözlenmiştir. Bu bulgulardan yola çıkılarak ghrelinin kemik yapımını arttırıcı rol oynadığı sonucuna varılmıştır (Fukushima et al., 2005, Maccarinelli et al., 2005).

Ghrelin ile kemik metabolizması arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmaların bir kısmında ghrelinin kemik döngüsüne ait bazı parametrelerle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Weiss et al., 2006, Huda et al., 2007). Weiss et al. (2006) çalışmalarında ghrelin ile kemik rezorpsiyonunun bir göstergesi olan N-telopeptid'in erkeklerde negatif yönde, kadınlarda ise pozitif yönde ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Huda et al. (2007) sağlıklı bireylerde devamlı ghrelin verilmesinin kemik rezorpsiyonu üzerine bir etkisinin olmadığını, ancak başlangıç ghrelin düzeyi ile plazma tip 1 kolajen β C-telopeptid arasında negatif yönde bir korelasyon olduğunu belirtmişlerdir. Deng et al. (2008) ratlarda kalvaryal kemik defektlerinde, lokal ghrelin uygulamasının ALP,

OSC ve kolajen tip 1 üretimini, dolayısıyla yeni kemik yapımını arttırdığını rapor etmişlerdir.

Gonnelli et al. (2008) ise erkeklerde total ghrelin ile kemik metabolizmasının belirteçleri arasında direkt bir ilişkinin olmadığını rapor etmişlerdir. Jurimae et al. (2009) da puberte dönemindeki erkek çocuklarda ghrelin ile PINP (procollagen type-1 amino-terminal propeptides) ve ICTP arasında ilişki olmadığını bulmuşlardır. Di Carlo et al. (2007) postmenopozal kadınlarda ghrelin ve OSC arasında bir korelasyon olmadığını bildirmişlerdir. Yakın dönemde yapılan bir çalışmada ise kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda, ghrelin ile sRANKL arasında negatif, OPG arasında pozitif yönde bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Ozkaya et al., 2007).

Ghrelinin KMD üzerine etkisi değerlendirildiğinde ise Misra et al. (2005) sağlıklı adolesanlarda ghrelin ile KMD arasında güçlü pozitif korelasyon saptamışlardır. Pacifico et al. (2009) sağlıklı çocuklarda açıl ghrelin ile tüm vücut KMD'si arasında negatif, obez bireylerde ise desaçil ghrelinle KMD arasında pozitif korelasyon rapor etmişlerdir. Jurimae et al. (2008) da postmenopozal kadınlarda ghrelin ile KMD arasında negatif yönde korelasyon bulmuşlardır. Weiss et al. (2006) ve Oh et al. (2005) ise ghrelinin KMD ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda kronik periodontitisli bireylerde plazma total ve açıl ghrelin düzeyleri ile OSC ve sRANKL arasında bir ilişki gözlenmezken, total ghrelinin ALP ile pozitif yönde korelasyonu saptandı. KP ve S grupları arasında ALP düzeyleri açısından farklılık bulunmamasına rağmen, KP grubunda total ghrelin ile ALP arasındaki pozitif korelasyon, ghrelinin kronik periodontitiste osteoblastik aktiviteyi etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmalarda ghrelinin geniş bir aktivite alanı olduğu belirtilmekle birlikte, plazma ghrelin düzeylerinin yaş, cinsiyet, VKİ gibi birçok faktörden etkilendiği rapor edilmiştir (Muccioli et al., 2002, Ingelsson et al., 2008, Kozakowski et al., 2008).

Literatürde cinsiyetin ghrelin düzeyine etkisiyle ilgili çalışmalarda farklı sonuçlar ortaya konmuştur. Çalışmaların bir kısmı cinsiyetin ghrelin düzeyini etkilemediğini bildirirken (Purnell et al., 2003, Vendrell et al., 2004); bazı çalışmalar ghrelinin kadınlarda daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir (Chan et al., 2004, Makovey et al., 2007, Ingelsson et al., 2008).

Çalışmamızda S grubunda hem total hem de açıl ghrelin düzeyleri, erkeklere kıyasla kadınlarda daha yüksekti, ancak bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi.

Gruplar arasında cinsiyete göre karşılaştırma yapıldığı zaman KP grubunda, S grubuna göre plazma total ve açıl ghrelin düzeyleri erkeklerde istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti, kadınlarda ise istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, plazma açıl ghrelin düzeyleri daha düşüktü. Çalışmamızın bir limitasyonu olarak gruplardaki kadın birey sayısının az olması, açıl ghrelinin kadın grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark sergilememesine neden olabilir.

Çalışmamızda cinsiyet ve periodontal durumun total ve açıl ghrelin düzeyleri üzerine birlikte etkisi analiz edildiğinde, açıl ghrelinin periodontitis varlığında cinsiyet ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkide olduğu görüldü. Bu bulgu ghrelin düzeylerinin cinsiyet hormonlarından etkilendiğini ve enflamasyon varlığında kadın ve erkeklerde farklı mekanizmalarla seviyelerinin düzenlendiğini düşündürmektedir. Cicero et al. (2010) da benzer şekilde cinsiyet hormonları ile ghrelinin kadın ve erkekler için spesifik etkileşimler gösterdiğini bildirmişler ve kadınlarda testosteron/östrojen oranının ghrelin seviyesi için ana belirleyicilerden biri olduğunu rapor etmişlerdir. Greenman et al. (2009) ise ghrelinin hem erkeklerde hem de postmenopozal kadınlarda testosteron ile pozitif korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Ayrıca aynı çalışmada cinsiyet ayrımı yapılmadan ghrelin ile estradiol arasında pozitif bir korelasyon da bulunmuştur.

Plazma ghrelin düzeyinin cinsiyetin yanı sıra yaştan da etkilendiği rapor edilmiştir. Yapılan çalışmaların bir kısmı ghrelin ile yaş arasında negatif yönde korelasyon tespit ederken (Ingelsson et al., 2008, Kozakowski et al., 2008); bir kısmı yaşla ghrelin düzeyi arasında ilişkinin olmadığını bildirmişlerdir (Shiia et al., 2002, Makovey et al., 2007). Purnell et al. (2003) ise ghrelinin yaşla birlikte arttığını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda ghrelin ile yaş arasında bir korelasyon saptanmadı, değerlendirilen tüm bireyler 30-45 yaş arasındaydı.

Ghrelinin aynı zamanda VKİ, kan yağları ve AKŞ'den de etkilendiği ve negatif yönde korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Muccioli et al., 2002). Bu nedenle çalışmaya dahil edilen bireylerin bireysel anamnezlerine bakılmaksızın tüm bireylerin kan yağları ve AKŞ düzeyleri analiz edildi, ayrıca boy ve kiloları ölçülerek VKİ değerleri hesaplandı. Kan yağları ve AKŞ normal aralıkta olan ve VKİ<25

kg/m² olan bireyler çalışmaya dahil edildi. Ayrıca ghrelin düzeyini etkilediği bilinen diyabet, obezite ve kardiyovasküler hastalık gibi herhangi bir sistemik hastalığı olan bireyler de çalışma dışı tutuldu. Çalışmaya dahil edilen bireylerin sistemik açıdan benzer popülasyondan seçilmiş olması ve sıkı dahil edilme kriterleri, elde ettiğimiz bulguların periodontal hastalığa bağlı enflamatuvar durumla ilişkili olarak yorumlanmasına imkan vermektedir.

6. SONUÇ

Periodontal hastalık varlığında hem total hem de açıl ghrelinin plazma düzeylerinde artış olmaktadır. Çalışmamızın bulguları literatürde ghrelin hormonunun enflamasyon varlığında arttığı düşüncesini destekler niteliktedir. Gruplar cinsiyete göre karşılaştırıldığında kronik periodontitise bağlı olarak total ve açıl ghrelinin sadece erkeklerde arttığının tespit edilmiş olması ve ayrıca açıl ghrelinin kadınlarda azalma eğilimi göstermesi, bu hormonun ve izotiplerinin cinsiyetten önemli oranda etkilendiğini ve enflamasyon varlığında farklı aktivite gösterdiğini ortaya koymaktadır. Ancak gruptaki kadın birey sayılarının az olması çalışmamızın bir limitasyonudur.

Çalışmamızda gruplar arasında TNF- α , sRANKL ve ALP düzeyleri açısından farklılık bulunmazken, S grubuna kıyasla KP grubunda daha yüksek IL-1 β , daha düşük OSC değerleri saptandı. KP grubunda, ALP dışında, ghrelin ile klinik ve serum parametreleri arasında herhangi bir anlamlı korelasyon bulunmadı. Ghrelin ile kemik yapımına ait belirteçlerden ALP arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmesi, bu hormonun alveoler kemik metabolizmasını etkileyebileceğini düşündürmektedir. Diğer taraftan çalışmamızda OPG düzeylerinin değerlendirilmemiş olması, ghrelinin RANKL/OPG yolu üzerine etkili olup olmadığına ilişkin yorum yapmamıza engel olmaktadır.

Sonuç olarak, ghrelinin kronik periodontitis patogenezinde rolü olup olmadığını anlamaya yönelik sadece kadın veya erkek bireyleri içeren geniş popülasyonlu çalışmalara ihtiyaç vardır. İlaveten, periodontitisin farklı tip ve şiddetine sahip bireylerde ve plazmanın yanı sıra dişeti, DOS ve salyada bu hormonun düzeylerinin belirlenmesi ve periodontal tedavinin ghrelin düzeyleri üzerine etkisinin incelenmesi, ghrelinin aktivitesini değerlendirmek açısından yararlı olabilir.

ÖZET

Periodontitisli Bireylerde Ghrelin Düzeylerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada, kronik periodontitisli bireylerde plazma ghrelin düzeylerinin değerlendirilmesi ve ghrelinin periodontal hastalıktaki klinik periodontal parametreler, serum sitokin düzeyleri ve serum kemik turnover belirteçleri ile ilişkili olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

Çalışmaya sistemik yönden sağlıklı, kronik periodontitisi (KP) olan 35 birey ve sistemik ve periodontal yönden sağlıklı (S) 35 birey dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen bireylerin plak indeksi, gingival indeks (Gİ), sondlamada kanama yüzdesi, cep derinliği ve klinik ataçman seviyesi değerlerini içeren periodontal parametreleri kaydedildi. Total ve açıl ghrelin, interlökin-1 β (IL- β), tümör nekroz faktör- α (TNF- α), çözünebilir reseptör aktivatör nükleer faktör- kappaB ligand (sRANKL), alkalen fosfataz (ALP) ve osteokalsin (OSC) düzeylerinin belirlenmesi için kan örnekleri alındı.

Plazma total ve açıl ghrelin düzeyleri KP grubunda S grubuna kıyasla anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Gruplar cinsiyete göre karşılaştırıldığında ise bu fark sadece erkek grupları arasında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Serum sRANKL, TNF- α ve ALP açısından gruplar arasında bir fark bulunmazken, KP grubunda IL-1 β düzeyinin arttığı, OSC düzeyinin ise azaldığı gözlemlendi ($p<0.05$). Ayrıca KP grubunda sRANKL ile Gİ, TNF- α ile ALP, total ghrelin ile ALP ve total ghrelin ile açıl ghrelin arasında pozitif korelasyonlar tespit edildi. Ghrelin düzeyleri ile periodontal parametreler arasında ise bir korelasyon gözlemlenmedi.

Çalışmamızın bulguları KP varlığında plazma total ve açıl ghrelin düzeylerinin arttığını göstermektedir. Periodontal hastalıkta ghrelinin ve farklı formlarının rolünü belirlemeye yönelik dişetinde, dişeti oluşu sıvısında ve salyada ghrelin düzeylerinin değerlendirildiği daha geniş popülasyonlu çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Alkalen fosfataz, ghrelin, IL-1 β , kronik periodontitis, osteokalsin, TNF- α

ABSTRACT

Determination of Ghrelin Levels in Periodontitis Patients

In this study, it was aimed to evaluate plasma ghrelin levels in chronic periodontitis patients and to investigate if any relationship exists between ghrelin and periodontal parameters, serum cytokines and bone turnover markers.

Thirty five systemically healthy and chronic periodontitis patients (CP) and 35 systemically and periodontal healthy individuals (C) were included in this study. Plaque index, gingival index (GI), bleeding on probing, probing depth and clinical attachment levels were recorded. Blood samples were obtained to determine levels of total and acylated ghrelin, interleukin-1 beta (IL-1 β), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), soluble receptor activator nuclear factor kappaB ligand (sRANKL), alkaline phosphatase (ALP) and osteocalcin (OSC).

Plasma levels of total and acylated ghrelin were significantly elevated in the CP group compared to the C group ($p < 0.05$). Such difference was significant only between male groups as groups were compared in respect to gender ($p < 0.05$). As there were no differences between groups regarding serum sRANKL, TNF- α and ALP, an increase in IL-1 β and a decrease in OSC level of CP group was observed ($p < 0.05$). Beside, positive correlations between sRANKL and GI, TNF- α and ALP, total ghrelin and ALP, total ghrelin and acylated ghrelin were determined. There wasn't any correlation between ghrelin levels and periodontal parameters.

Our results indicates an augmentation of plasma total and acylated ghrelin levels in existence of CP. Researches with large populations where ghrelin levels in gingiva, gingival crevicular fluid and saliva are determined in order to evaluate the role of ghrelin and its' different forms in periodontal disease are needed.

Keywords: Alkaline phosphatase, chronic periodontitis, ghrelin, IL-1 β , osteocalcin, TNF- α

KAYNAKLAR

- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Activation of T Lymphocytes. In: *Cellular and Molecular Immunology*. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, Eds. 4th Ed., USA: W.B. Saunders Company, 2000a: p.161-181.
- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. B Cell Activation and Antibody Production. In: *Cellular and Molecular Immunology*. Abbas A.K., Lichtman A.H., Pober J.S., Eds. 4th Ed., USA: W.B. Saunders company, 2000b: p.182-207.
- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cytokines. In: *Cellular and Molecular Immunology*. Abbas A.K., Lichtman A.H., Pober J.S., Eds. 4th Ed., USA: W.B. Saunders Company, 2000c: p.235-269.
- Achemlal L, Tellal S, Rkiouak F, Nouijai A, Bezza A, Derouiche el M et al. Bone metabolism in male patients with type 2 diabetes. *Clin Rheumatol* 2005; 24(5): 493-496.
- Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975; 25(4): 229-235.
- Akamizu T, Takaya K, Irako T, Hosoda H, Teramukai S, Matsuyama A et al. Pharmacokinetics, safety, and endocrine and appetite effects of ghrelin administration in young healthy subjects. *Eur J Endocrinol* 2004; 150(4): 447-455.
- Akin O, Gol K, Akturk M, Erkaya S. Evaluation of bone turnover in postmenopausal patients with type 2 diabetes mellitus using biochemical markers and bone mineral density measurements. *Gynecol Endocrinol* 2003; 17(1): 19-29.
- Albandar JM. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontol 2000* 2002; 29: 177-206.
- Allam E, Draz A, Hassan A, Neamat A, Galal M, Windsor LJ. Expression of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand in ligature-induced periodontitis in osteoporotic and non-osteoporotic rats. *J Periodontal Res* 2010; 45(1): 136-142.
- Andrukhov O, Ulm C, Reischl H, Nguyen PQ, Matejka M, Rausch-Fan X. Serum cytokine levels in periodontitis patients in relation to the bacterial load. *J Periodontol* 2011; 82(6): 885-892.
- Aoyagi T, Sugawara-Aoyagi M, Yamazaki K, Hara K. Interleukin 4 (IL-4) and IL-6-producing memory T-cells in peripheral blood and gingival tissue in periodontitis patients with high serum antibody titers to Porphyromonas gingivalis. *Oral Microbiol Immunol* 1995; 10(5): 304-310.
- Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T et al. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(10): 4753-4758.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999; 4(1): 1-6.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Northwest Dent* 2000; 79(6): 31-35.
- Armitage GC. Comparison of the microbiological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000* 2010; 53: 70-88.
- Armitage GC, Cullinan MP. Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000* 2010; 53: 12-27.

Armitage GC, Cullinan MP, Seymour GJ. Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis: introduction. *Periodontol 2000* 2010; 53: 7-11.

Assuma R, Oates T, Cochran D, Amar S, Graves DT. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol* 1998; 160(1): 403-409.

Aydin S, Halifeoglu I, Ozercan IH, Erman F, Kilic N, Ilhan N et al. A comparison of leptin and ghrelin levels in plasma and saliva of young healthy subjects. *Peptides* 2005; 26(4): 647-652.

Aydin S, Ozercan IH, Geckil H, Dagli F, Kumru S, Kilic N et al. Ghrelin is present in teeth. *J Biochem Mol Biol* 2007; 40(3): 368-372.

Baatar D, Patel K, Taub DD. The effects of ghrelin on inflammation and the immune system. *Mol Cell Endocrinol* 2011 (Basımda).

Bao Y, Zhou M, Lu Z, Li H, Wang Y, Sun L et al. Serum levels of osteocalcin are inversely associated with the metabolic syndrome and the severity of coronary artery disease in Chinese men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011a. (Basımda)

Bao YQ, Zhou M, Zhou J, Lu W, Gao YC, Pan XP et al. Relationship between serum osteocalcin and glycaemic variability in Type 2 diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2011b; 38(1): 50-54.

Barazzoni R, Bosutti A, Stebel M, Cattin MR, Roder E, Visintin L et al. Ghrelin regulates mitochondrial-lipid metabolism gene expression and tissue fat distribution in liver and skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288(1): E228-235.

Barkan AL, Dimaraki EV, Jessup SK, Symons KV, Ermolenko M, Jaffe CA. Ghrelin secretion in humans is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin, and not affected by the ambient growth hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(5): 2180-2184.

Bartold PM, Cantley MD, Haynes DR. Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontol 2000* 2010; 53: 55-69.

Bednarek MA, Feighner SD, Pong SS, McKee KK, Hreniuk DL, Silva MV et al. Structure-function studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J Med Chem* 2000; 43(23): 4370-4376.

Beklen A, Ainola M, Hukkanen M, Gurgan C, Sorsa T, Konttinen YT. MMPs, IL-1, and TNF are regulated by IL-17 in periodontitis. *J Dent Res* 2007; 86(4): 347-351.

Belardelli F, Ferrantini M. Cytokines as a link between innate and adaptive antitumor immunity. *Trends Immunol* 2002; 23(4): 201-208.

Belibasakis GN, Bostanci N, Hashim A, Johansson A, Aduse-Opoku J, Curtis MA et al. Regulation of RANKL and OPG gene expression in human gingival fibroblasts and periodontal ligament cells by *Porphyromonas gingivalis*: a putative role of the Arg-gingipains. *Microb Pathog* 2007; 43(1): 46-53.

Belibasakis GN, Reddi D, Bostanci N. *Porphyromonas gingivalis* Induces RANKL in T-cells. *Inflammation* 2010; 34(2): 133-138.

Berglundh T, Donati M. Aspects of adaptive host response in periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32(6): 87-107.

Bizzarro S, van der Velden U, ten Heggeler JM, Leivadaros E, Hoek FJ, Gerdes VE et al. Periodontitis is characterized by elevated PAI-1 activity. *J Clin Periodontol* 2007; 34(7): 574-580.

Blach A, Franek E, Witula A, Kolonko A, Chudek J, Drugacz J et al. The influence of chronic periodontitis on serum TNF-alpha, IL-6 and hs-CRP concentrations, and function of graft and survival of kidney transplant recipients. *Clin Transplant* 2009; 23(2): 213-219.

Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Toz H et al. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol* 2007a; 34(5): 370-376.

Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Toz H et al. Differential expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin mRNA in periodontal diseases. *J Periodontol Res* 2007b; 42(4): 287-293.

Bourgeois D, Bouchard P, Mattout C. Epidemiology of periodontal status in dentate adults in France, 2002-2003. *J Periodontol Res* 2007; 42(3): 219-227.

Boyce BF, Li P, Yao Z, Zhang Q, Badell IR, Schwarz EM et al. TNF-alpha and pathologic bone resorption. *Keio J Med* 2005; 54(3): 127-131.

Bretz WA, Weyant RJ, Corby PM, Ren D, Weissfeld L, Kritchevsky SB et al. Systemic inflammatory markers, periodontal diseases, and periodontal infections in an elderly population. *J Am Geriatr Soc* 2005; 53(9): 1532-1537.

Broglio F, Benso A, Castiglioni C, Gottero C, Prodam F, Destefanis S et al. The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(4): 1537-1542.

Broglio F, Gottero C, Prodam F, Gauna C, Muccioli G, Papotti M et al. Non-acylated ghrelin counteracts the metabolic but not the neuroendocrine response to acylated ghrelin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6): 3062-3065.

Buduneli E, Buduneli N, Vardar-Sengul S, Kardesler L, Atilla G, Lappin D et al. Systemic low-dose doxycycline and alendronate administration and serum interleukin-1beta, osteocalcin, and C-reactive protein levels in rats. *J Periodontol* 2005; 76(11): 1927-1933.

Buhlin K, Hultin M, Norderyd O, Persson L, Pockley AG, Rabe P et al. Risk factors for atherosclerosis in cases with severe periodontitis. *J Clin Periodontol* 2009; 36(7): 541-549.

Bullon P, Chandler L, Segura Egea JJ, Perez Cano R, Martinez Sahuquillo A. Osteocalcin in serum, saliva and gingival crevicular fluid: their relation with periodontal treatment outcome in postmenopausal women. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007; 12(3): E193-197.

Bullon P, Goberna B, Guerrero JM, Segura JJ, Perez-Cano R, Martinez-Sahuquillo A. Serum, saliva, and gingival crevicular fluid osteocalcin: their relation to periodontal status and bone mineral density in postmenopausal women. *J Periodontol* 2005; 76(4): 513-519.

Caetano-Lopes J, Canhao H, Fonseca JE. Osteoblasts and bone formation. *Acta Reumatol Port* 2007; 32(2): 103-110.

Caixas A, Bashore C, Nash W, Pi-Sunyer F, Laferrere B. Insulin, unlike food intake, does not suppress ghrelin in human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(4): 1902.

Callahan HS, Cummings DE, Pepe MS, Breen PA, Matthys CC, Weigle DS. Postprandial suppression of plasma ghrelin level is proportional to ingested caloric load but does not predict intermeal interval in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(3): 1319-1324.

Caminos JE, Gualillo O, Lago F, Otero M, Blanco M, Gallego R et al. The endogenous growth hormone secretagogue (ghrelin) is synthesized and secreted by chondrocytes. *Endocrinology* 2005; 146(3): 1285-1292.

Caminos JE, Seoane LM, Tovar SA, Casanueva FF, Dieguez C. Influence of thyroid status and growth hormone deficiency on ghrelin. *Eur J Endocrinol* 2002; 147(1): 159-163.

Cardoso CR, Garlet GP, Crippa GE, Rosa AL, Junior WM, Rossi MA et al. Evidence of the presence of T helper type 17 cells in chronic lesions of human periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol* 2009; 24(1): 1-6.

Carranza FA. Bone Loss and Patterns of Bone Destruction. In: *Carranza's Clinical Periodontology*. Newman MG Takei HH, Carranza FA, Eds. 9th Ed., Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2002a: p.354-370.

Carranza FA, Camargo, P.M. The Periodontal Pocket. In: *Carranza's Clinical Periodontology*. Newman MG Takei HH, Carranza FA, Eds. 9th Ed., Philadelphia: W.B. Saunders, 2002b: p.337-353.

Carranza FA, Rapley, J.W., Haake, S.K. Gingival Inflammation. In: *Carranza's Clinical Periodontology*. Newman MG Takei HH, Carranza FA, Eds. 9th Ed., Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2002c: p.263-267.

Chan JL, Bullen J, Lee JH, Yiannakouris N, Mantzoros CS. Ghrelin levels are not regulated by recombinant leptin administration and/or three days of fasting in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(1): 335-343.

Chapple IL, Garner I, Saxby MS, Moscrop H, Matthews JB. Prediction and diagnosis of attachment loss by enhanced chemiluminescent assay of crevicular fluid alkaline phosphatase levels. *J Clin Periodontol* 1999; 26(3): 190-198.

Chen CC, Chang KL, Huang JF, Huang JS, Tsai CC. Correlation of interleukin-1 beta, interleukin-6, and periodontitis. *Kaohsiung J Med Sci* 1997; 13(10): 609-617.

Chen J, Liu X, Shu Q, Li S, Luo F. Ghrelin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through NO pathway. *Med Sci Monit* 2008a; 14(7): BR141-146.

Chen YW, Umeda M, Nagasawa T, Takeuchi Y, Huang Y, Inoue Y et al. Periodontitis may increase the risk of peripheral arterial disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2008b; 35(2): 153-158.

Chow KB, Cheng CH, Wise H. Anti-Inflammatory Activity of Ghrelin in Human Carotid Artery Cells. *Inflammation* 2009.

Christenson RH. Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clin Biochem* 1997; 30(8): 573-593.

Cicero AF, Magni P, Lentini P, Ruscica M, Dozio E, Strollo F et al. Sex hormones and adipokines in healthy pre-menopausal, post-menopausal and elderly women, and in age-matched men: data from the Brisighella Heart Study. *J Endocrinol Invest* 2010 (Basimda).

Cobb CM, Williams KB, Gerkovitch MM. Is the prevalence of periodontitis in the USA in decline? *Periodontol 2000* 2009; 50: 13-24.

Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol* 2008; 79(8): 1569-1576.

Costa FO, Guimaraes AN, Cota LO, Pataro AL, Segundo TK, Cortelli SC et al. Impact of different periodontitis case definitions on periodontal research. *J Oral Sci* 2009; 51(2): 199-206.

Crotti T, Smith MD, Hirsch R, Soukoulis S, Weedon H, Capone M et al. Receptor activator NF kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodontol Res* 2003; 38(4): 380-387.

Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001; 50(8): 1714-1719.

Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP et al. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 2002; 346(21): 1623-1630.

Czerniuk MR, Gorska R, Filipiak KJ, Opolski G. Inflammatory response to acute coronary syndrome in patients with coexistent periodontal disease. *J Periodontol* 2004; 75(7): 1020-1026.

D'Aiuto F, Graziani F, Tete S, Gabriele M, Tonetti MS. Periodontitis: from local infection to systemic diseases. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2005; 18(3): 1-11.

Daltaban O, Saygun I, Bal B, Balos K, Serdar M. Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase levels in postmenopausal women: effects of phase I periodontal treatment. *J Periodontol* 2006; 77(1): 67-72.

Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000; 141(11): 4255-4261.

Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S, Dezaki K, Mondal MS, Hosoda H et al. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 2002; 51(1): 124-129.

De Vriese C, Hacquebard M, Gregoire F, Carpentier Y, Delporte C. Ghrelin interacts with human plasma lipoproteins. *Endocrinology* 2007; 148(5): 2355-2362.

Delaleu N, Bickel M. Interleukin-1 beta and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. *Periodontol 2000* 2004; 35: 42-52.

Delhanty PJ, van der Eerden BC, van der Velde M, Gauna C, Pols HA, Jahr H et al. Ghrelin and unacylated ghrelin stimulate human osteoblast growth via mitogen-activated protein kinase (MAPK)/phosphoinositide 3-kinase (PI3K) pathways in the absence of GHS-R1a. *J Endocrinol* 2006; 188(1): 37-47.

Demmer RT, Papapanou PN. Epidemiologic patterns of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000* 2010; 53: 28-44.

Deng F, Ling J, Ma J, Liu C, Zhang W. Stimulation of intramembranous bone repair in rats by ghrelin. *Exp Physiol* 2008; 93(7): 872-879.

Dezaki K, Sone H, Koizumi M, Nakata M, Kakei M, Nagai H et al. Blockade of pancreatic islet-derived ghrelin enhances insulin secretion to prevent high-fat diet-induced glucose intolerance. *Diabetes* 2006; 55(12): 3486-3493.

Di Carlo C, Tommaselli GA, Gargano V, Sammartino A, Bifulco G, Tauchmanova L et al. Effects of estrogen-progestin therapy on serum levels of RANKL, osteoprotegerin, osteocalcin, leptin, and ghrelin in postmenopausal women. *Menopause* 2007; 14(1): 38-44.

Dixit VD, Schaffer EM, Pyle RS, Collins GD, Sakthivel SK, Palaniappan R et al. Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest* 2004; 114(1): 57-66.

Dixit VD, Taub DD. Ghrelin and immunity: a young player in an old field. *Exp Gerontol* 2005; 40(11): 900-910.

Dixit VD, Yang H, Cooper-Jenkins A, Giri BB, Patel K, Taub DD. Reduction of T cell-derived ghrelin enhances proinflammatory cytokine expression: implications for age-associated increases in inflammation. *Blood* 2009; 113(21): 5202-5205.

Dixon DR, Bainbridge BW, Darveau RP. Modulation of the innate immune response within the periodontium. *Periodontol 2000* 2004; 35: 53-74.

Dong C, Flavell RA. Th1 and Th2 cells. *Curr Opin Hematol* 2001; 8(1): 47-51.

Dornonville de la Cour C, Bjorkqvist M, Sandvik AK, Bakke I, Zhao CM, Chen D et al. A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control. *Regul Pept* 2001; 99(2-3): 141-150.

Dornonville de la Cour C, Lindstrom E, Norlen P, Hakanson R. Ghrelin stimulates gastric emptying but is without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regul Pept* 2004; 120(1-3): 23-32.

Duarte PM, da Rocha M, Sampaio E, Mestnik MJ, Feres M, Figueiredo LC et al. Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after non-surgical periodontal therapy: a pilot study. *J Periodontol* 2010; 81(7): 1056-1063.

Dutzan N, Gamonal J, Silva A, Sanz M, Vernal R. Over-expression of forkhead box P3 and its association with receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand, interleukin (IL) -17, IL-10 and transforming growth factor-beta during the progression of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2009; 36(5): 396-403.

El Eter E, Al Tuwajjiri A, Hagar H, Arafa M. In vivo and in vitro antioxidant activity of ghrelin: Attenuation of gastric ischemic injury in the rat. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22(11): 1791-1799.

Elçi A. Postmenapozal kadınlarda serum total osteokalsin ve gamma karboksi glutamat kalıntısı taşımayan osteokalsin oranı ile kemik mineral dansitesi ölçümünün karşılaştırılması. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık, İstanbul (Prof.Dr.Atalay S.), 2004.

Engbretson S, Chertog R, Nichols A, Hey-Hadavi J, Celenti R, Grbic J. Plasma levels of tumour necrosis factor-alpha in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Clin Periodontol* 2007; 34(1): 18-24.

Erdemir EO, Duran I, Haliloglu S. Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF-alpha in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2004; 31(2): 99-104.

Ernst CW, Lee JE, Nakanishi T, Karimbux NY, Rezende TM, Stashenko P et al. Diminished forkhead box P3/CD25 double-positive T regulatory cells are associated with the increased nuclear factor-kappaB ligand (RANKL+) T cells in bone resorption lesion of periodontal disease. *Clin Exp Immunol* 2007; 148(2): 271-280.

Everts V, Delaisse JM, Korper W, Jansen DC, Tigchelaar-Gutter W, Saftig P et al. The bone lining cell: its role in cleaning Howship's lacunae and initiating bone formation. *J Bone Miner Res* 2002; 17(1): 77-90.

Fentoglu O, Koroglu BK, Hicyilmaz H, Sert T, Ozdem M, Sutcu R et al. Pro-inflammatory cytokine levels in association between periodontal disease and hyperlipidaemia. *J Clin Periodontol* 2011; 38(1): 8-16.

Ferron M, Hinoi E, Karsenty G, Ducy P. Osteocalcin differentially regulates beta cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(13): 5266-5270.

Flemmig TF. Periodontitis. *Ann Periodontol* 1999; 4(1): 32-38.

Ford PJ, Gamonal J, Seymour GJ. Immunological differences and similarities between chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000* 2010; 53: 111-123.

Fujihashi K, Yamamoto M, Hiroi T, Bamberg TV, McGhee JR, Kiyono H. Selected Th1 and Th2 cytokine mRNA expression by CD4(+) T cells isolated from inflamed human gingival tissues. *Clin Exp Immunol* 1996; 103(3): 422-428.

Fukushima N, Hanada R, Teranishi H, Fukue Y, Tachibana T, Ishikawa H et al. Ghrelin directly regulates bone formation. *J Bone Miner Res* 2005; 20(5): 790-798.

Garcia RI, Nunn ME, Dietrich T. Risk calculation and periodontal outcomes. *Periodontol 2000* 2009; 50: 65-77.

Garnero P, Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover. Applications for osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998; 27(2): 303-323.

Gauna C. Metabolic aspects of the ghrelin system. Erasmus University of Rotterdam, Doctorate, Rotterdam. (Prof.Dr.van der Lely Aart J.), 2007.

Gauna C, van de Zande B, van Kerkwijk A, Themmen AP, van der Lely AJ, Delhanty PJ. Unacylated ghrelin is not a functional antagonist but a full agonist of the type 1a growth hormone secretagogue receptor (GHS-R). *Mol Cell Endocrinol* 2007; 274(1-2): 30-34.

Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000* 1997; 14: 112-143.

Gemmell E, Seymour GJ. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontol 2000* 2004; 35: 21-41.

Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(1): 17-34.

Ghigo E, Arvat E, Giordano R, Broglio F, Gianotti L, Maccario M et al. Biologic activities of growth hormone secretagogues in humans. *Endocrine* 2001; 14(1): 87-93.

Giannobile WV, Al-Shammari KF, Sarment DP. Matrix molecules and growth factors as indicators of periodontal disease activity. *Periodontol 2000* 2003; 31: 125-134.

Giannobile WV, Lynch SE, Denmark RG, Paquette DW, Fiorellini JP, Williams RC. Crevicular fluid osteocalcin and pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP) as markers of rapid bone turnover in periodontitis. A pilot study in beagle dogs. *J Clin Periodontol* 1995; 22(12): 903-910.

Gibert P, Tramini P, Sieso V, Piva MT. Alkaline phosphatase isozyme activity in serum from patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res* 2003; 38(4): 362-365.

Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(6): 2988.

Gonnelli S, Caffarelli C, Del Santo K, Cadirni A, Guerriero C, Lucani B et al. The relationship of ghrelin and adiponectin with bone mineral density and bone turnover markers in elderly men. *Calcif Tissue Int* 2008; 83(1): 55-60.

Gonzalez-Gay MA, Garcia-Unzueta MT, Berja A, Vazquez-Rodriguez TR, Gonzalez-Juanatey C, de Matias JM et al. Anti-tumour necrosis factor alpha therapy

modulates ghrelin in patients with severe rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008; 67(11): 1644-1646.

Gorska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madalinski K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2003; 30(12): 1046-1052.

Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1beta and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent* 2004; 32(7): 511-520.

Granado M, Priego T, Martin AI, Villanua MA, Lopez-Calderon A. Anti-inflammatory effect of the ghrelin agonist growth hormone-releasing peptide-2 (GHRP-2) in arthritic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288(3): E486-492.

Grano M, Galimi F, Zambonin G, Colucci S, Cottone E, Zallone AZ et al. Hepatocyte growth factor is a coupling factor for osteoclasts and osteoblasts in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(15): 7644-7648.

Graves DT, Delima AJ, Assuma R, Amar S, Oates T, Cochran D. Interleukin-1 and tumor necrosis factor antagonists inhibit the progression of inflammatory cell infiltration toward alveolar bone in experimental periodontitis. *J Periodontol* 1998; 69(12): 1419-1425.

Greenman Y, Rouach V, Limor R, Gilad S, Stern N. Testosterone is a strong correlate of ghrelin levels in men and postmenopausal women. *Neuroendocrinology* 2009; 89(1): 79-85.

Haake SK. Periodontal Microbiology. In: *Carranza's Clinical Periodontology*. Newman MG, Takei HH, Carranza FA, Eds. 9th Ed., Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2002: p.97-112.

Han X, Kawai T, Taubman MA. Interference with immune-cell-mediated bone resorption in periodontal disease. *Periodontol 2000* 2007; 45: 76-94.

Hanazawa S, Kawata Y, Takeshita A, Kumada H, Okithu M, Tanaka S et al. Expression of monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) in adult periodontal disease: increased monocyte chemotactic activity in crevicular fluids and induction of MCP-1 expression in gingival tissues. *Infect Immun* 1993; 61(12): 5219-5224.

Haqq AM, Farooqi IS, O'Rahilly S, Stadler DD, Rosenfeld RG, Pratt KL et al. Serum ghrelin levels are inversely correlated with body mass index, age, and insulin concentrations in normal children and are markedly increased in Prader-Willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(1): 174-178.

Hataya Y, Akamizu T, Hosoda H, Kanamoto N, Moriyama K, Kangawa K et al. Alterations of plasma ghrelin levels in rats with lipopolysaccharide-induced wasting syndrome and effects of ghrelin treatment on the syndrome. *Endocrinology* 2003; 144(12): 5365-5371.

Hattori N. Expression, regulation and biological actions of growth hormone (GH) and ghrelin in the immune system. *Growth Horm IGF Res* 2009; 19(3): 187-197.

Hattori N, Saito T, Yagyu T, Jiang BH, Kitagawa K, Inagaki C. GH, GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells, and neutrophils. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(9): 4284-4291.

Himmerich H, Sheldrick AJ. TNF-alpha and ghrelin: opposite effects on immune system, metabolism and mental health. *Protein Pept Lett* 2010; 17(2): 186-196.

Hofbauer LC, Heufelder AE. Role of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *J Mol Med* 2001; 79(5-6): 243-253.

Holmstrup P. Non-plaque-induced gingival lesions. *Ann Periodontol* 1999; 4(1): 20-31.

Horvath TL, Diano S, Sotonyi P, Heiman M, Tschop M. Minireview: ghrelin and the regulation of energy balance--a hypothalamic perspective. *Endocrinology* 2001; 142(10): 4163-4169.

Hosoda H, Doi K, Nagaya N, Okumura H, Nakagawa E, Enomoto M et al. Optimum collection and storage conditions for ghrelin measurements: octanoyl modification of ghrelin is rapidly hydrolyzed to desacyl ghrelin in blood samples. *Clin Chem* 2004; 50(6): 1077-1080.

Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Purification and characterization of rat des-Gln14-Ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J Biol Chem* 2000; 275(29): 21995-22000.

Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem* 2003; 278(1): 64-70.

Hosomi S, Oshitani N, Kamata N, Sogawa M, Yamagami H, Watanabe K et al. Phenotypical and functional study of ghrelin and its receptor in the pathogenesis of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14(9): 1205-1213.

Hou Y, An J, Hu XR, Sun BB, Lin J, Xu D et al. Ghrelin inhibits interleukin-8 production induced by hydrogen peroxide in A549 cells via NF-kappaB pathway. *Int Immunopharmacol* 2009; 9(1): 120-126.

Houri-Haddad Y, Wilensky A, Shapira L. T-cell phenotype as a risk factor for periodontal disease. *Periodontol 2000* 2007; 45: 67-75.

Huang CX, Yuan MJ, Huang H, Wu G, Liu Y, Yu SB et al. Ghrelin inhibits post-infarct myocardial remodeling and improves cardiac function through anti-inflammation effect. *Peptides* 2009; 30(12): 2286-2291.

Huda MS, Durham BH, Wong SP, Dovey TM, McCulloch P, Kerrigan D et al. Lack of an acute effect of ghrelin on markers of bone turnover in healthy controls and post-gastrectomy subjects. *Bone* 2007; 41(3): 406-413.

Hughes FJ, Syed M, Koshy B, Marinho V, Bostanci N, McKay IJ et al. Prognostic factors in the treatment of generalized aggressive periodontitis: I. Clinical features and initial outcome. *J Clin Periodontol* 2006; 33(9): 663-670.

Iacopino AM, Cutler CW. Pathophysiological relationships between periodontitis and systemic disease: recent concepts involving serum lipids. *J Periodontol* 2000; 71(8): 1375-1384.

Ikezawa I, Tai H, Shimada Y, Komatsu Y, Galicia JC, Yoshie H. Imbalance between soluble tumour necrosis factor receptors type 1 and 2 in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32(10): 1047-1054.

Ingelsson E, Larson MG, Yin X, Wang TJ, Meigs JB, Lipinska I et al. Circulating ghrelin, leptin, and soluble leptin receptor concentrations and cardiometabolic risk factors in a community-based sample. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(8): 3149-3157.

Ishihara Y, Nishihara T, Kuroyanagi T, Shirozu N, Yamagishi E, Ohguchi M et al. Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. *J Periodontol Res* 1997; 32(6): 524-529.

Jabbar S, Drury J, Fordham J, Datta HK, Francis RM, Tuck SP. Plasma vitamin D and cytokines in periodontal disease and postmenopausal osteoporosis. *J Periodontol Res* 2011; 46(1): 97-104.

Jepsen KJ. Systems Analysis of Bone. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2009; 1(1): 73-88.

Jurimae J, Jurimae T, Leppik A, Kums T. The influence of ghrelin, adiponectin, and leptin on bone mineral density in healthy postmenopausal women. *J Bone Miner Metab* 2008; 26(6): 618-623.

Jurimae J, Pomerants T, Tillmann V, Jurimae T. Bone metabolism markers and ghrelin in boys at different stages of sexual maturity. *Acta Paediatr* 2009; 98(5): 892-896.

Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Host-mediated resolution of inflammation in periodontal diseases. *Periodontol 2000* 2006; 40: 144-163.

Karmiris K, Koutroubakis IE, Kouroumalis EA. Leptin, adiponectin, resistin, and ghrelin--implications for inflammatory bowel disease. *Mol Nutr Food Res* 2008; 52(8): 855-866.

Katagiri T, Takahashi N. Regulatory mechanisms of osteoblast and osteoclast differentiation. *Oral Dis* 2002; 8(3): 147-159.

Katergari SA, Milousis A, Pagonopoulou O, Asimakopoulos B, Nikolettos NK. Ghrelin in pathological conditions. *Endocr J* 2008; 55(3): 439-453.

Katz Y, Nadiv O, Beer Y. Interleukin-17 enhances tumor necrosis factor alpha-induced synthesis of interleukins 1,6, and 8 in skin and synovial fibroblasts: a possible role as a "fine-tuning cytokine" in inflammation processes. *Arthritis Rheum* 2001; 44(9): 2176-2184.

Kawai T, Eisen-Lev R, Seki M, Eastcott JW, Wilson ME, Taubman MA. Requirement of B7 costimulation for Th1-mediated inflammatory bone resorption in experimental periodontal disease. *J Immunol* 2000; 164(4): 2102-2109.

Kawai T, Matsuyama T, Hosokawa Y, Makihiro S, Seki M, Karimbux NY et al. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am J Pathol* 2006; 169(3): 987-998.

Kawczynska-Drozd A, Olszanecki R, Jawien J, Brzozowski T, Pawlik WW, Korbut R et al. Ghrelin inhibits vascular superoxide production in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 2006; 19(7): 764-767.

Kellokoski E, Kummu O, Serpi R, Lehenkari P, Ukkola O, Kesaniemi YA et al. Ghrelin vaccination decreases plasma MCP-1 level in LDLR(-/-)-mice. *Peptides* 2009a; 30(12): 2292-2300.

Kellokoski E, Kunnari A, Jokela M, Makela S, Kesaniemi YA, Horkko S. Ghrelin and obestatin modulate early atherogenic processes on cells: enhancement of monocyte adhesion and oxidized low-density lipoprotein binding. *Metabolism* 2009b; 58(11): 1572-1580.

Kim J, Amar S. Periodontal disease and systemic conditions: a bidirectional relationship. *Odontology* 2006; 94(1): 10-21.

Kim SW, Her SJ, Park SJ, Kim D, Park KS, Lee HK et al. Ghrelin stimulates proliferation and differentiation and inhibits apoptosis in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Bone* 2005; 37(3): 359-369.

Kinane DF, Berglundh, T., Lindhe, J. Host-Parasite Interactions in Periodontal Disease. In: *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Lindhe J Karring T, Lang NP, Eds. 4th Ed., U.K.: Blackwell Munksgaard, 2003a: p.150-178.

Kinane DF, Lindhe J. Chronic Periodontitis. In: *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Lindhe J Karring T, Lang NP, Eds. 4th Ed., UK: Blackwell Munksgaard, 2003b: p.209-266.

Kishimoto M, Okimura Y, Nakata H, Kudo T, Iguchi G, Takahashi Y et al. Cloning and characterization of the 5'(-)-flanking region of the human ghrelin gene. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 305(1): 186-192.

Kobayashi T, Murasawa A, Komatsu Y, Yokoyama T, Ishida K, Abe A et al. Serum cytokine and periodontal profiles in relation to disease activity of rheumatoid arthritis in Japanese adults. *J Periodontol* 2010; 81(5): 650-657.

Koca SS, Ozgen M, Aydin S, Dag S, Evren B, Isik A. Ghrelin and obestatin levels in rheumatoid arthritis. *Inflammation* 2008; 31(5): 329-335.

Kodama T, Ashitani J, Matsumoto N, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin treatment suppresses neutrophil-dominant inflammation in airways of patients with chronic respiratory infection. *Pulm Pharmacol Ther* 2008; 21(5): 774-779.

Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402(6762): 656-660.

Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 2005; 85(2): 495-522.

Konturek PC, Brzozowski T, Engel M, Burnat G, Gaca P, Kwiecien S et al. Ghrelin ameliorates colonic inflammation. Role of nitric oxide and sensory nerves. *J Physiol Pharmacol* 2009; 60(2): 41-47.

Koo GC, Huang C, Camacho R, Trainor C, Blake JT, Sirotina-Meisher A et al. Immune enhancing effect of a growth hormone secretagogue. *J Immunol* 2001; 166(6): 4195-4201.

Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. Ghrelin--a hormone with multiple functions. *Front Neuroendocrinol* 2004; 25(1): 27-68.

Kozakowski J, Rabijewski M, Zgliczynski W. Ghrelin - growth hormone releasing and orexigenic hormone in men declines with age, insulin and with decrease in testosterone concentration. *Neuro Endocrinol Lett* 2008; 29(1): 100-106.

Kubota K, Sakikawa C, Katsumata M, Nakamura T, Wakabayashi K. Platelet-derived growth factor BB secreted from osteoclasts acts as an osteoblastogenesis inhibitory factor. *J Bone Miner Res* 2002; 17(2): 257-265.

Kunimatsu K, Mataka S, Tanaka H, Mine N, Kiyoki M, Hosoda K et al. A cross-sectional study on osteocalcin levels in gingival crevicular fluid from periodontal patients. *J Periodontol* 1993; 64(9): 865-869.

Lappin DF, Eapen B, Robertson D, Young J, Hodge PJ. Markers of bone destruction and formation and periodontitis in type 1 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 2009; 36(8): 634-641.

Lee AJ, Walsh TF, Hodges SJ, Rawlinson A. Gingival crevicular fluid osteocalcin in adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 1999; 26(4): 252-256.

Leite-Moreira AF, Soares JB. Physiological, pathological and potential therapeutic roles of ghrelin. *Drug Discov Today* 2007; 12(7-8): 276-288.

Li L, Zhang LK, Pang YZ, Pan CS, Qi YF, Chen L et al. Cardioprotective effects of ghrelin and des-octanoyl ghrelin on myocardial injury induced by isoproterenol in rats. *Acta Pharmacol Sin* 2006; 27(5): 527-535.

Li WG, Gavrilu D, Liu X, Wang L, Gunnlaugsson S, Stoll LL et al. Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB activation in human endothelial cells. *Circulation* 2004; 109(18): 2221-2226.

Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. Systemic diseases caused by oral infection. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13(4): 547-558.

Liu KN, Meng HX, Tang XL, Xu L, Zhang L, Chen ZB et al. Correlation analysis between plasma levels of 25-hydroxy vitamin D3 and osteocalcin in patients with aggressive periodontitis. *Beijing Da Xue Xue Bao* 2009; 41(1): 49-51.

Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000* 2010; 52(1): 163-206.

Loe H. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *J Periodontol* 1967; 38(6): Suppl:610-616.

Loesche WJ, Grossman NS. Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(4): 727-752, table of contents.

Loos BG. Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol* 2005; 76(11): 2106-2115.

Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol* 2000; 71(10): 1528-1534.

Lu S, Guan JL, Wang QP, Uehara K, Yamada S, Goto N et al. Immunocytochemical observation of ghrelin-containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Neurosci Lett* 2002; 321(3): 157-160.

Lucidi P, Murdolo G, Di Loreto C, Parlanti N, De Cicco A, Fatone C et al. Metabolic and endocrine effects of physiological increments in plasma ghrelin concentrations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005; 15(6): 410-417.

Luo FM, Liu XJ, Li SQ, Wang ZL, Liu CT, Yuan YM. Circulating ghrelin in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Nutrition* 2005; 21(7-8): 793-798.

Ma S, Guo J, You X, Xia W, Yan F. Expressions of Interleukin-1beta and Interleukin-6 Within Aortas and Uteri of Rats with Various Severities of Ligature-Induced Periodontitis. *Inflammation* 2010 (Basımda).

Maccarinelli G, Sibilina V, Torsello A, Raimondo F, Pitto M, Giustina A et al. Ghrelin regulates proliferation and differentiation of osteoblastic cells. *J Endocrinol* 2005; 184(1): 249-256.

Mackie EJ. Osteoblasts: novel roles in orchestration of skeletal architecture. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35(9): 1301-1305.

Madison LD, Scarlett JM, Levasseur P, Zhu X, Newcomb K, Batra A et al. Prostacyclin signaling regulates circulating ghrelin during acute inflammation. *J Endocrinol* 2008; 196(2): 263-273.

Mafra D, Farage NE, Lobo JC, Stockler-Pinto MB, Leal VO, Carvalho DP et al. Relationship between total ghrelin and inflammation in hemodialysis patients. *Peptides* 2011; 32(2): 358-361.

Makovey J, Naganathan V, Seibel M, Sambrook P. Gender differences in plasma ghrelin and its relations to body composition and bone - an opposite-sex twin study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 66(4): 530-537.

Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 2000; 21(2): 115-137.

Mariotti A. Sex steroid hormones and cell dynamics in the periodontium. *Crit Rev Oral Biol Med* 1994; 5(1): 27-53.

Mariotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. *Ann Periodontol* 1999; 4(1): 7-19.

Markou E, Eleana B, Lazaros T, Antonios K. The influence of sex steroid hormones on gingiva of women. *Open Dent J* 2009; 3: 114-119.

Mascarenhas P, Gapski R, Al-Shammari K, Wang HL. Influence of sex hormones on the periodontium. *J Clin Periodontol* 2003; 30(8): 671-681.

Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z et al. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 276(3): 905-908.

Matsuo K. Cross-talk among bone cells. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009; 18(4): 292-297.

Matsuo K, Irie N. Osteoclast-osteoblast communication. *Arch Biochem Biophys* 2008; 473(2): 201-209.

McCauley LK, Nohutcu RM. Mediators of periodontal osseous destruction and remodeling: principles and implications for diagnosis and therapy. *J Periodontol* 2002; 73(11): 1377-1391.

McCowen KC, Maykel JA, Bistrrian BR, Ling PR. Circulating ghrelin concentrations are lowered by intravenous glucose or hyperinsulinemic euglycemic conditions in rodents. *J Endocrinol* 2002; 175(2): R7-11.

McKee KK, Palyha OC, Feighner SD, Hreniuk DL, Tan CP, Phillips MS et al. Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors. *Mol Endocrinol* 1997a; 11(4): 415-423.

McKee KK, Tan CP, Palyha OC, Liu J, Feighner SD, Hreniuk DL et al. Cloning and characterization of two human G protein-coupled receptor genes (GPR38 and GPR39) related to the growth hormone secretagogue and neurotensin receptors. *Genomics* 1997b; 46(3): 426-434.

Mealey BL, Rethman MP. Periodontal disease and diabetes mellitus. Bidirectional relationship. *Dent Today* 2003; 22(4): 107-113.

Mengel R, Bacher M, Flores-De-Jacoby L. Interactions between stress, interleukin-1beta, interleukin-6 and cortisol in periodontally diseased patients. *J Clin Periodontol* 2002; 29(11): 1012-1022.

Misra M, Miller KK, Stewart V, Hunter E, Kuo K, Herzog DB et al. Ghrelin and bone metabolism in adolescent girls with anorexia nervosa and healthy adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(9): 5082-5087.

Mogi M, Ootogoto J, Ota N, Togari A. Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J Dent Res* 2004; 83(2): 166-169.

Muccioli G, Tschop M, Papotti M, Deghenghi R, Heiman M, Ghigo E. Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: implications in metabolism and obesity. *Eur J Pharmacol* 2002; 440(2-3): 235-254.

Nagasawa T, Kiji M, Yashiro R, Hormdee D, Lu H, Kunze M et al. Roles of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin in periodontal health and disease. *Periodontol 2000* 2007; 43: 65-84.

Nakajima T, Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Ito H et al. Periodontitis-associated up-regulation of systemic inflammatory mediator level may increase the risk of coronary heart disease. *J Periodontol Res* 2010; 45(1): 116-122.

Nakajima T, Ueki-Maruyama K, Oda T, Ohsawa Y, Ito H, Seymour GJ et al. Regulatory T-cells infiltrate periodontal disease tissues. *J Dent Res* 2005; 84(7): 639-643.

Nakamura I, Jimi E. Regulation of osteoclast differentiation and function by interleukin-1. *Vitam Horm* 2006; 74: 357-370.

Nakamura T, Nitta H, Ishikawa I. Effect of low dose *Actinobacillus actinomycetemcomitans* lipopolysaccharide pretreatment on cytokine production by human whole blood. *J Periodontol Res* 2004; 39(2): 129-135.

Nakashima K, Giannopoulou C, Andersen E, Roehrich N, Brochut P, Dubrez B et al. A longitudinal study of various crevicular fluid components as markers of periodontal disease activity. *J Clin Periodontol* 1996; 23(9): 832-838.

Nakashima K, Roehrich N, Cimasoni G. Osteocalcin, prostaglandin E2 and alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid: their relations to periodontal status. *J Clin Periodontol* 1994; 21(5): 327-333.

Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S, Kawakami A, Eguchi K, Sasaki H et al. Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 275(3): 768-775.

Nakashima T, Takayanagi H. Osteoclasts and the immune system. *J Bone Miner Metab* 2009; 27(5): 519-529.

Neary NM, Goldstone AP, Bloom SR. Appetite regulation: from the gut to the hypothalamus. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 60(2): 153-160.

Nishi Y, Hiejima H, Hosoda H, Kaiya H, Mori K, Fukue Y et al. Ingested medium-chain fatty acids are directly utilized for the acyl modification of ghrelin. *Endocrinology* 2005; 146(5): 2255-2264.

Novak KF, Novak, M.J. Risk Assessment. In: *Carranza's Clinical Periodontology*. Newman MG, Takei HH, Carranza FA, Eds. 9th Ed., Philadelphia: WB Saunders Company, 2002: p.469-474.

O'Garra A. Cytokines induce the development of functionally heterogeneous T helper cell subsets. *Immunity* 1998; 8(3): 275-283.

O'Garra A. Commitment factors for T helper cells. *Curr Biol* 2000; 10(13): R492-494.

Obay BD, Tasdemir E, Tumer C, Bilgin HM, Atmaca M. Dose dependent effects of ghrelin on pentylentetrazole-induced oxidative stress in a rat seizure model. *Peptides* 2008; 29(3): 448-455.

Offenbacher S, Beck JD, Moss K, Mendoza L, Paquette DW, Barrow DA et al. Results from the Periodontitis and Vascular Events (PAVE) Study: a pilot multicentered, randomized, controlled trial to study effects of periodontal therapy in a secondary prevention model of cardiovascular disease. *J Periodontol* 2009; 80(2): 190-201.

Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G et al. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol* 1996; 67(10): 1103-1113.

Oh KW, Lee WY, Rhee EJ, Baek KH, Yoon KH, Kang MI et al. The relationship between serum resistin, leptin, adiponectin, ghrelin levels and bone mineral density in middle-aged men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 63(2): 131-138.

Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 2000; 117(4): 1162-1172.

Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21(4): 256-260.

Ozcaka O, Nalbantsoy A, Kose T, Buduneli N. Plasma osteoprotegerin levels are decreased in smoker chronic periodontitis patients. *Aust Dent J* 2010; 55(4): 405-410.

Ozkaya O, Buyan N, Bideci A, Gonen S, Ortac E, Fidan K et al. Osteoprotegerin and RANKL serum levels and their relationship with serum ghrelin in children with chronic renal failure and on dialysis. *Nephron Clin Pract* 2007; 105(4): c153-158.

Pacifico L, Anania C, Poggiogalle E, Osborn JF, Prossomariti G, Martino F et al. Relationships of acylated and des-acyl ghrelin levels to bone mineralization in obese children and adolescents. *Bone* 2009; 45(2): 274-279.

Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000* 1997; 14: 1-248.

Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* 1976; 34(3): 235-249.

Paknejad M, Emtiaz S, Khoobyari MM, Gharb MT, Yazdi MT. Analysis of aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase in crevicular fluid from implants with and without peri-implantitis. *Implant Dent* 2006; 15(1): 62-69.

Papotti M, Ghe C, Cassoni P, Catapano F, Deghenghi R, Ghigo E et al. Growth hormone secretagogue binding sites in peripheral human tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(10): 3803-3807.

Parfitt AM. Osteonal and hemi-osteonal remodeling: the spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone. *J Cell Biochem* 1994; 55(3): 273-286.

Parfitt AM, Mundy GR, Roodman GD, Hughes DE, Boyce BF. A new model for the regulation of bone resorption, with particular reference to the effects of bisphosphonates. *J Bone Miner Res* 1996; 11(2): 150-159.

Pathirana RD, O'Brien-Simpson NM, Reynolds EC. Host immune responses to Porphyromonas gingivalis antigens. *Periodontol 2000* 2010; 52(1): 218-237.

Perinetti G, Paolantonio M, Femminella B, Serra E, Spoto G. Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase activity reflects periodontal healing/recurrent inflammation phases in chronic periodontitis patients. *J Periodontol* 2008; 79(7): 1200-1207.

Perozini C, Chibebe PC, Leao MV, Queiroz Cda S, Pallos D. Gingival crevicular fluid biochemical markers in periodontal disease: a cross-sectional study. *Quintessence Int* 2010; 41(10): 877-883.

Pettersson I, Muccioli G, Granata R, Deghenghi R, Ghigo E, Ohlsson C et al. Natural (ghrelin) and synthetic (hexarelin) GH secretagogues stimulate H9c2 cardiomyocyte cell proliferation. *J Endocrinol* 2002; 175(1): 201-209.

Pischon N, Hagewald S, Kunze M, Heng N, Christan C, Kleber BM et al. Influence of periodontal therapy on the regulation of soluble cell adhesion molecule expression in aggressive periodontitis patients. *J Periodontol* 2007; 78(4): 683-690.

Pittas AG, Harris SS, Eliades M, Stark P, Dawson-Hughes B. Association between serum osteocalcin and markers of metabolic phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(3): 827-832.

Poykko SM, Kellokoski E, Ukkola O, Kauma H, Paivansalo M, Kesaniemi YA et al. Plasma ghrelin concentrations are positively associated with carotid artery atherosclerosis in males. *J Intern Med* 2006; 260(1): 43-52.

Pradeep AR, Daisy H, Hadge P. Serum levels of monocyte chemoattractant protein-1 in periodontal health and disease. *Cytokine* 2009a; 47(2): 77-81.

Pradeep AR, Hadge P, Chowdhry S, Patel S, Happy D. Exploring the role of Th1 cytokines: interleukin-17 and interleukin-18 in periodontal health and disease. *J Oral Sci* 2009b; 51(2): 261-266.

Pradeep AR, Roopa Y, Swati PP. Interleukin-4, a T-helper 2 cell cytokine, is associated with the remission of periodontal disease. *J Periodontol Res* 2008; 43(6): 712-716.

Purnell JQ, Weigle DS, Breen P, Cummings DE. Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholesterol, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(12): 5747-5752.

Rasmussen L, Hanstrom L, Lerner UH. Characterization of bone resorbing activity in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000; 27(1): 41-52.

Reddi D, Bostanci N, Hashim A, Aduse-Opoku J, Curtis MA, Hughes FJ et al. Porphyromonas gingivalis regulates the RANKL-OPG system in bone marrow stromal cells. *Microbes Infect* 2008; 10(14-15): 1459-1468.

Reinhardt RA, Sanderfer VJ, Meinberg TA, Nummikoski P, Lee HM, Marx DB. Local biochemical markers of bone turnover: relationship to subsequent density of healing alveolar bone defects. *J Clin Periodontol* 2004; 31(3): 223-228.

Roach HI. Why does bone matrix contain non-collagenous proteins? The possible roles of osteocalcin, osteonectin, osteopontin and bone sialoprotein in bone mineralisation and resorption. *Cell Biol Int* 1994; 18(6): 617-628.

Robling AG, Castillo AB, Turner CH. Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annu Rev Biomed Eng* 2006; 8: 455-498.

Rogers A, Eastell R. Circulating osteoprotegerin and receptor activator for nuclear factor kappaB ligand: clinical utility in metabolic bone disease assessment. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(11): 6323-6331.

Saad MF, Bernaba B, Hwu CM, Jinagouda S, Fahmi S, Kogosov E et al. Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(8): 3997-4000.

Salvi GE, Brown CE, Fujihashi K, Kiyono H, Smith FW, Beck JD et al. Inflammatory mediators of the terminal dentition in adult and early onset periodontitis. *J Periodontol Res* 1998; 33(4): 212-225.

Sanchez J, Oliver P, Palou A, Pico C. The inhibition of gastric ghrelin production by food intake in rats is dependent on the type of macronutrient. *Endocrinology* 2004; 145(11): 5049-5055.

Sato M, Nakahara K, Goto S, Kaiya H, Miyazato M, Date Y et al. Effects of ghrelin and des-acyl ghrelin on neurogenesis of the rat fetal spinal cord. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 350(3): 598-603.

Savage A, Eaton KA, Moles DR, Needleman I. A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. *J Clin Periodontol* 2009; 36(6): 458-467.

Scariano JK, Garry PJ, Montoya GD, Chandani AK, Wilson JM, Baumgartner RN. Serum leptin levels, bone mineral density and osteoblast alkaline phosphatase activity in elderly men and women. *Mech Ageing Dev* 2003; 124(3): 281-286.

Schwartz Z, Goultchin J, Dean DD, Boyan BD. Mechanisms of alveolar bone destruction in periodontitis. *Periodontol* 2000 1997; 14: 158-172.

Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, Yamazaki K. Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13 (4): 3-10.

Shiia T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(1): 240-244.

Shimizu Y, Nagaya N, Teranishi Y, Imazu M, Yamamoto H, Shokawa T et al. Ghrelin improves endothelial dysfunction through growth hormone-independent mechanisms in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310(3): 830-835.

Sibilia V, Muccioli G, Deghenghi R, Pagani F, De Luca V, Rapetti D et al. Evidence for a role of the GHS-R1a receptors in ghrelin inhibition of gastric acid secretion in the rat. *J Neuroendocrinol* 2006; 18(2): 122-128.

Sibilia V, Rindi G, Pagani F, Rapetti D, Locatelli V, Torsello A et al. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology* 2003; 144(1): 353-359.

Sigusch B, Klinger G, Glockmann E, Simon HU. Early-onset and adult periodontitis associated with abnormal cytokine production by activated T lymphocytes. *J Periodontol* 1998; 69(10): 1098-1104.

Silness J, Loe H. Periodontal Disease in Pregnancy. Ii. Correlation between Oral Hygiene and Periodontal Condition. *Acta Odontol Scand* 1964; 22: 121-135.

Sims NA, Gooi JH. Bone remodeling: Multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19(5): 444-451.

Slots J, Kamma JJ, Sugar C. The herpesvirus-*Porphyromonas gingivalis*-periodontitis axis. *J Periodontol Res* 2003; 38(3): 318-323.

Smith M, Seymour GJ, Cullinan MP. Histopathological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000* 2010; 53: 45-54.

Smith RG, Jiang H, Sun Y. Developments in ghrelin biology and potential clinical relevance. *Trends Endocrinol Metab* 2005; 16(9): 436-442.

Smith RG, Van der Ploeg LH, Howard AD, Feighner SD, Cheng K, Hickey GJ et al. Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocr Rev* 1997; 18(5): 621-645.

Soares JB, Leite-Moreira AF. Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin: three pieces of the same puzzle. *Peptides* 2008; 29(7): 1255-1270.

Socransky SS, Haffajee, A.D. Microbiology of Periodontal Disease. In: *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Lindhe J Karring T, Lang NP, Eds. 4th Ed., U.K.: Blackwell Munksgaard, 2003: p.106-149.

Sowers MR, Wildman RP, Mancuso P, Eyvazzadeh AD, Karvonen-Gutierrez CA, Rillamas-Sun E et al. Change in adipocytokines and ghrelin with menopause. *Maturitas* 2008; 59(2): 149-157.

St-Pierre DH, Bastard JP, Coderre L, Brochu M, Karelis AD, Lavoie ME et al. Association of acylated ghrelin profiles with chronic inflammatory markers in overweight and obese postmenopausal women: a MONET study. *Eur J Endocrinol* 2007a; 157(4): 419-426.

St-Pierre DH, Karelis AD, Coderre L, Malita F, Fontaine J, Mignault D et al. Association of acylated and nonacylated ghrelin with insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007b; 92(1): 264-269.

Stabholz A, Soskolne WA, Shapira L. Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000* 2010; 53: 138-153.

Stains JP, Civitelli R. Genomic approaches to identifying transcriptional regulators of osteoblast differentiation. *Genome Biol* 2003; 4(7): 222.

Stashenko P, Goncalves RB, Lipkin B, Ficarelli A, Sasaki H, Campos-Neto A. Th1 immune response promotes severe bone resorption caused by *Porphyromonas gingivalis*. *Am J Pathol* 2007; 170(1): 203-213.

Suchett-Kaye G, Morrier JJ, Barsotti O. Interactions between non-immune host cells and the immune system during periodontal disease: role of the gingival keratinocyte. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9(3): 292-305.

Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev* 1999; 20(3): 345-357.

Suematsu M, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Matsumoto K et al. Decreased circulating levels of active ghrelin are associated with increased oxidative stress in obese subjects. *Eur J Endocrinol* 2005; 153(3): 403-407.

Sung EZ, Da Silva NF, Goodyear S, McTernan PG, Sanger GJ, Nwokolo CU. Increased plasma ghrelin following infliximab in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29(1): 83-89.

Sung EZ, Da Silva NF, Goodyear SJ, McTernan PG, Arasaradnam RP, Nwokolo CU. Ghrelin promotes nuclear factor kappa-B activation in a human B-lymphocyte cell line. *Mol Biol Rep* 2010 (Basımda).

Surna A, Sakalauskiene J, Vitkauskiene A, Saferis V. [Microbiological and biochemical characteristics of inflammatory tissues in the periodontium]. *Medicina (Kaunas)* 2008; 44(3): 201-210.

Svensson J, Lall S, Dickson SL, Bengtsson BA, Romer J, Ahnfelt-Ronne I et al. Effects of growth hormone and its secretagogues on bone. *Endocrine* 2001; 14(1): 63-66.

Swaminathan R. Biochemical markers of bone turnover. *Clin Chim Acta* 2001; 313(1-2): 95-105.

Taba M, Jr., Kinney J, Kim AS, Giannobile WV. Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dent Clin North Am* 2005; 49(3): 551-571, vi.

Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M et al. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(12): 4908-4911.

Takeichi O, Haber J, Kawai T, Smith DJ, Moro I, Taubman MA. Cytokine profiles of T-lymphocytes from gingival tissues with pathological pocketing. *J Dent Res* 2000; 79(8): 1548-1555.

Taştaban E. Osteoporoz Patogenezinde Antioksidan Enzimler ve RANKL. Adnan Menderes Üniversitesi, Uzmanlık Tezi, Aydın. (Prof.Dr.Şendur Ö.F.), 2008.

Tatakis DN, Kumar PS. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. *Dent Clin North Am* 2005; 49(3): 491-516.

Taubman MA, Kawai T. Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. *Crit Rev Oral Biol Med* 2001; 12(2): 125-135.

Taylor JJ. Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000* 2010; 54(1): 160-194.

Thompson NM, Davies JS, Mode A, Houston PA, Wells T. Pattern-dependent suppression of growth hormone (GH) pulsatility by ghrelin and GH-releasing peptide-6 in moderately GH-deficient rats. *Endocrinology* 2003; 144(11): 4859-4867.

Thompson NM, Gill DA, Davies R, Loveridge N, Houston PA, Robinson IC et al. Ghrelin and des-octanoyl ghrelin promote adipogenesis directly in vivo by a mechanism independent of the type 1a growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology* 2004; 145(1): 234-242.

Tokoro Y, Yamamoto T, Hara K. IL-1 beta mRNA as the predominant inflammatory cytokine transcript: correlation with inflammatory cell infiltration into human gingiva. *J Oral Pathol Med* 1996; 25(5): 225-231.

Torsello A, Ghe C, Bresciani E, Catapano F, Ghigo E, Deghenghi R et al. Short ghrelin peptides neither displace ghrelin binding in vitro nor stimulate GH release in vivo. *Endocrinology* 2002; 143(5): 1968-1971.

Toshinai K, Mondal MS, Nakazato M, Date Y, Murakami N, Kojima M et al. Upregulation of Ghrelin expression in the stomach upon fasting, insulin-induced hypoglycemia, and leptin administration. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 281(5): 1220-1225.

Totan A, Greabu M, Totan C, Spinu T. Salivary aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase: possible markers in periodontal diseases? *Clin Chem Lab Med* 2006; 44(5): 612-615.

Toussiroit E, Streit G, Nguyen NU, Dumoulin G, Le Huede G, Saas P et al. Adipose tissue, serum adipokines, and ghrelin in patients with ankylosing spondylitis. *Metabolism* 2007; 56(10): 1383-1389.

Tracey KJ, Cerami A. Tumor necrosis factor: a pleiotropic cytokine and therapeutic target. *Annu Rev Med* 1994; 45: 491-503.

Troen BR. Molecular mechanisms underlying osteoclast formation and activation. *Exp Gerontol* 2003; 38(6): 605-614.

Trombone AP, Ferreira SB, Jr., Raimundo FM, de Moura KC, Avila-Campos MJ, Silva JS et al. Experimental periodontitis in mice selected for maximal or minimal inflammatory reactions: increased inflammatory immune responsiveness drives increased alveolar bone loss without enhancing the control of periodontal infection. *J Periodontal Res* 2009; 44(4): 443-451.

Tumer C, Bilgin HM, Obay BD, Diken H, Tasdemir E, Sermet A. Effect of ghrelin administration on phagocytic activity in acute cold-restraint stress exposed rats. *Regul Pept* 2007; 138(2-3): 113-117.

Ueberberg B, Unger N, Saeger W, Mann K, Petersenn S. Expression of Ghrelin and its Receptor in Human Tissues. *Horm Metab Res* 2009; 41(11): 814-821.

Unsal B, Saygun I, Daltaban O, Bal B, Bolu E. The relationship between periodontal status and alkaline phosphatase levels in gingival crevicular fluid in men with hypergonadotropic hypogonadism. *Yonsei Med J* 2008; 49(1): 71-78.

van der Lely AJ, Tschop M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev* 2004; 25(3): 426-457.

Vardar-Sengul S, Buduneli N, Buduneli E, Kardesler L, Baylas H, Atilla G et al. Dietary supplementation of omega-3 fatty acid and circulating levels of interleukin-1beta, osteocalcin, and C-reactive protein in rats. *J Periodontol* 2006; 77(5): 814-820.

Vega D, Maalouf NM, Sakhaee K. CLINICAL Review #: the role of receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK)/RANK ligand/osteoprotegerin: clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(12): 4514-4521.

Vendrell J, Broch M, Vilarrasa N, Molina A, Gomez JM, Gutierrez C et al. Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: relationships in obesity. *Obes Res* 2004; 12(6): 962-971.

Verbruggen A, De Clerck LS, Bridts CH, Van Offel JF, Stevens WJ. Flow cytometrical determination of interleukin 1beta, interleukin 6 and tumour necrosis factor alpha in monocytes of rheumatoid arthritis patients; relation with parameters of osteoporosis. *Cytokine* 1999; 11(11): 869-874.

Vila G, Maier C, Riedl M, Nowotny P, Ludvik B, Luger A et al. Bacterial endotoxin induces biphasic changes in plasma ghrelin in healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(10): 3930-3934.

von Wowern N, Westergaard J, Kollerup G. Bone mineral content and bone metabolism in young adults with severe periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001; 28(6): 583-588.

Wang L, Basa NR, Shaikh A, Luckey A, Heber D, St-Pierre DH et al. LPS inhibits fasted plasma ghrelin levels in rats: role of IL-1 and PGs and functional implications. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 291(4): G611-620.

Waseem T, Duxbury M, Ito H, Ashley SW, Robinson MK. Exogenous ghrelin modulates release of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in LPS-stimulated macrophages through distinct signaling pathways. *Surgery* 2008; 143(3): 334-342.

Watts NB. Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. *Clin Chem* 1999; 45(8 Pt 2): 1359-1368.

Weigle DS, Cummings DE, Newby PD, Breen PA, Frayo RS, Matthys CC et al. Roles of leptin and ghrelin in the loss of body weight caused by a low fat, high carbohydrate diet. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(4): 1577-1586.

Weiss LA, Langenberg C, Barrett-Connor E. Ghrelin and bone: is there an association in older adults?: the Rancho Bernardo study. *J Bone Miner Res* 2006; 21(5): 752-757.

Wells T, Houston PA. Skeletal growth acceleration with growth hormone secretagogues in transgenic growth retarded rats: pattern-dependent effects and mechanisms of desensitization. *J Neuroendocrinol* 2001; 13(6): 496-504.

Wiebe SH, Hafezi M, Sandhu HS, Sims SM, Dixon SJ. Osteoclast activation in inflammatory periodontal diseases. *Oral Dis* 1996; 2(2): 167-180.

Wilson AN, Schmid MJ, Marx DB, Reinhardt RA. Bone turnover markers in serum and periodontal microenvironments. *J Periodontal Res* 2003; 38(4): 355-361.

Wu R, Dong W, Zhou M, Cui X, Hank Simms H, Wang P. Ghrelin improves tissue perfusion in severe sepsis via downregulation of endothelin-1. *Cardiovasc Res* 2005; 68(2): 318-326.

Xia Q, Pang W, Pan H, Zheng Y, Kang JS, Zhu SG. Effects of ghrelin on the proliferation and secretion of splenic T lymphocytes in mice. *Regul Pept* 2004; 122(3): 173-178.

Xu G, Li Y, An W, Zhang W. Ghrelin and cell differentiation. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2008; 40(10): 841-847.

- Yada T, Dezaki K, Sone H, Koizumi M, Damdindorj B, Nakata M et al. Ghrelin regulates insulin release and glycemia: physiological role and therapeutic potential. *Curr Diabetes Rev* 2008; 4(1): 18-23.
- Yamazaki K, Honda T, Oda T, Ueki-Maruyama K, Nakajima T, Yoshie H et al. Effect of periodontal treatment on the C-reactive protein and proinflammatory cytokine levels in Japanese periodontitis patients. *J Periodontal Res* 2005; 40(1): 53-58.
- Yoshimoto A, Mori K, Sugawara A, Mukoyama M, Yahata K, Suganami T et al. Plasma ghrelin and desacyl ghrelin concentrations in renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(11): 2748-2752.
- Yucel OO, Berker E, Gariboglu S, Otlu H. Interleukin-11, interleukin-1beta, interleukin-12 and the pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 2008; 35(5): 365-370.
- Zhang W, Zhao L, Lin TR, Chai B, Fan Y, Gantz I et al. Inhibition of adipogenesis by ghrelin. *Mol Biol Cell* 2004; 15(5): 2484-2491.
- Zhao D, Zhan Y, Zeng H, Moyer MP, Mantzoros CS, Pothoulakis C. Ghrelin stimulates interleukin-8 gene expression through protein kinase C-mediated NF-kappaB pathway in human colonic epithelial cells. *J Cell Biochem* 2006; 97(6): 1317-1327.
- Zigman JM, Jones JE, Lee CE, Saper CB, Elmquist JK. Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain. *J Comp Neurol* 2006; 494(3): 528-548.
- Zuza EP, Barroso EM, Carrareto AL, Pires JR, Carlos IZ, Theodoro LH et al. The role of obesity as a modifying factor in patients undergoing non-surgical periodontal therapy. *J Periodontol* 2011; 82(5): 676-682.

EKLER

EK 1. SDÜ Tıp Fakóltesi Dekanlığı Etik Kurulu Kararı

EK 2. Bilgilendirilmiş Hasta Onam Formu



SDÜ T.F.D.
ETİK KURULU

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
ISPARTA

SAYI : B.30.2.SDÜ.0.20.05.04/76 - 1124
KONU: Projeniz Hk.

12.03.2009

SAYIN
Prof.Dr.F.Yeşim BOZKURT
SDÜ Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D. Öğretim Üyesi

Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz Çalışmanız ile ilgili olarak Etik Kurulumuzda alınan 10.02.2009 tarih ve 02/02 sayılı karar örneği ekte sunulmuştur.

Gereğini ve bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Yıldırım SONGÜR
Dekan

EKLER:

- 1 Adet Karar Sureti
- 1 Adet Çalışma

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI FAKÜLTE ETİK KURULU KARARLARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
10.02.2009	02	02

Fakülte Etik Kurulu 10 Şubat 2009 tarihinde Saat 15:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.,

02- SDÜ Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.F.Yeşim BOZKURT'un "Periodontitisli bireylerde ghrelin düzeylerinin belirlenmesi." konulu çalışma;

Etik Kurul tarafından uygun görülmüştür.

(KATILMADI)
Prof. Dr.Yıldıran SONGÜR
BAŞKAN

(İMZA)
Prof. Dr. Ahmet Rifat ÖRMECİ
ÜYE

(İMZA)
Prof.Dr.Mahmut BÜLBÜL
ÜYE

(KATILMADI)
Doç.Dr.Pınar YÜKSEL BAŞAK
ÜYE

(İMZA)
Yrd.Doç. Dr. Esin KULAÇ
ÜYE

Doç.Dr.Nilgün KAPUCUOĞLU
ÜYE
(İMZA)

Yrd.Doç.Dr.Duygu KUMBUL DOĞUŞ
ÜYE
(İMZA)

Yrd. Doç. Dr.Ekrem ÇİÇEK
ÜYE
(İMZA)

Yrd.Doç. Dr. Ekrem ÇİÇEK
(Raportör)

ASLİ GİBİDİR

12.03.2009

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI FAKÜLTE ETİK KURULU KARARLARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
10.02.2009	02	02

Fakülte Etik Kurulu 10 Şubat 2009 tarihinde Saat 15:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.,

02- SDÜ Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.F.Yeşim BOZKURT'un "Periodontitisli bireylerde ghrelin düzeylerinin belirlenmesi." konulu çalışma;

Etik Kurul tarafından uygun görülmüştür.

(KATILMADI)
Prof. Dr.Yıldıran SONGÜR
BAŞKAN

(İMZA)
Prof. Dr. Ahmet Rifat ÖRMECİ
ÜYE

(İMZA)
Prof.Dr.Mahmut BÜLBÜL
ÜYE

(KATILMADI)
Doç.Dr.Pınar YÜKSEL BAŞAK
ÜYE

(İMZA)
Yrd.Doç. Dr. Esin KULAÇ
ÜYE

Doç.Dr.Nilgün KAPUCUOĞLU
ÜYE
(İMZA)

Yrd.Doç.Dr.Duygu KUMBUL DOĞUŞ
ÜYE
(İMZA)

Yrd. Doç. Dr.Ekrem ÇİÇEK
ÜYE
(İMZA)

Yrd.Doç. Dr. Ekrem ÇİÇEK
(Raportör)
ASLI GİBİDİR
12.03.2009

BİLGİLENDİRİLMİŞ HASTA ONAM FORMU

İştah veya açlık hormonu olarak da tanımlanan ghrelinin vücuttaki birçok doku ve sistem üzerine etki ettiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda ghrelinin kalp ve damar sistemi, iskelet ve kas sistemi, üreme sistemi ve büyüme ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca diyabet (şeker hastalığı), hipertansiyon ve obezite (şişmanlık) gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir. Ancak dişeti hastalığı ile ghrelin arasındaki ilişkiyi değerlendirmeye yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Dişeti hastalığı bakteriler tarafından oluşturulan kronik enfeksiyöz bir hastalıktır. Hastalık oluşumunda çeşitli enflamatuvar moleküller rol oynar. Ghrelinin farklı hastalıklarda, dişeti hastalığının oluşumunda görev alan benzer moleküller üzerine etki etmesi dişeti hastalığının oluşumunda da rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Araştırmamızda, ghrelin ile dişeti hastalığı arasındaki ilişkinin belirlenmesine yönelik değerlendirmeler yapılacaktır. Bu amaçla periodontitis teşhisi konmuş sistemik olarak sağlıklı bireylerden sabah aç karnına venöz kan (koldan) alınacaktır. Ayrıca dişeti sağlığının değerlendirilebilmesi amacıyla ağız içi muayenesi de yapılarak, kayıtlar (plak indeksi, gingival indeks, periodontal cep derinliği, sondlamada kanama, klinik ataçman seviyesi) tutulacaktır. Bireylerden alınan kan ve dişeti sağlığının değerlendirilmesinde kullanılan yöntemler, teşhis amacıyla rutinde kullanılan tekniklerdir. Araştırma sırasında yapılacak olan uygulamalar, bireylerde sağlık açısından risk teşkil etmemekte ve ağrıya neden olmamaktadır. Bireylerin araştırmaya katılmayı reddetme hakkı vardır. Çalışmanın herhangi bir aşamasında çalışmadan ayrılabilirler. Bu araştırmaya katıldığı için bireylere bedel ödenmeyecektir ve bireylerde ücret talebinde bulunamayacaklardır.

Bu araştırma sonucunda elde edilen bilgiler eğitim ve bilimsel araştırmalarda kullanılacaktır. Araştırmanın sonunda ghrelinin dişeti hastalığının patogenezinde rol oynayıp oynamadığı değerlendirilmiş olacaktır.

Dt. Gülin Yılmaz

Araştırma hakkında bana sözlü ve yazılı açıklama yapıldı. Bilmek istediğim her şeyi sordum. Bu araştırmaya, kendi rızamla, hiç baskı ve zorlama olmadan katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün adı, imzası, adresi, telefon numarası:

Açıklamayı yapan araştırıcının adı, imzası:

ÖZGEÇMİŞ

KİMLİK VE İLETİŞİM BİLGİLERİ

Adı-soyadı: Gülin YILMAZ

Doğum yeri-tarihi: Antalya-14.02.1982

Adres: Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı

Telefon: 0505 279 02 88

e-mail: dtgulinyilmaz@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

İlkokul: Ahmet Ferda Kahraman İlkokulu- Antalya (1988-1993)

Ortaokul: Atatürk Ortaokulu-Antalya (1993-1996)

Lise: Karatay Süper Lisesi- Antalya (1996-2000)

Üniversite: Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi-Ankara (2000-2005)

Doktora: Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı (2006-)

Yabancı dil: İngilizce

Üye olduğu bilimsel kuruluşlar: Türk Periodontoloji Derneği

YAYINLAR

Hakemli dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makale

1. Fentoğlu Ö., Yılmaz G., Koçak H., Sütçü R., Kırzioğlu FY. 'Periodontitisli Hiperlipidemili Bireylerde Periodontal Tedavinin Salya Laktoferrin Seviyeleri Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi' SDÜ Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, Cilt 2, Sayı 1, s:1-11, 2010.
2. Yılmaz G., Fentoğlu Ö., Özdem M., Kırzioğlu FY. 'Obezite ve periodontal hastalık ilişkisi.' SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, Cilt 1, Sayı 2, s:108-118, 2010.

3. Doğan B., Yılmaz G., Fentoğlu Ö., Kırzıoğlu FY. 'Antioksidan Vitaminlerin Periodontal Sağlıktaki Rolü.' SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, Cilt 1, Sayı 2, s:133-141, 2010.

SCI, SSCI ve AHCI tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makale

1. Fentoğlu O, Köroğlu BK, Kara Y, Doğan B, Yılmaz G, Sütçü R, Ay ZY, Tonguç MO, Orhan H, Tamer MN, Kırzıoğlu FY. 'Serum Lipoprotein-Associated Phospholipase A(2) and C-Reactive Protein Levels in Association Between Periodontal Disease and Hyperlipidemia' J Periodontol 2011;82:350-359.

SCI, SSCI ve AHCI dışındaki indeks ve özetler tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayın

1. Yetkin Ay Z., Bozkurt FY., Cumhuriyet M., Yılmaz G., Sütçü R., Uskun E., Berker E. "The IL-11 and IL-17 Levels in Rheumatoid Arthritis Patients." Europerio 6, 04-06.06.2009, Stockholm, İsveç.

Ulusal toplantıda sunularak özet metin olarak yayımlanan bildiri

1. Yetkin Ay Z., Yılmaz G., Özdem M., Mermi Ceyhan B., Sütçü R., Tunç E., Uskun E., Kırzıoğlu FY. 'Romatoid artritli ve kronik periodontitisli hastalarda RANKL, OPG, INF-γ düzeylerinin incelenmesi.' TPD 39. Bilimsel Kongresi & 19. Bilimsel Sempozyumu. 29-31 Ekim 2009, Ankara.

Uluslararası toplantıda sunularak özet metin olarak yayımlanan bildiri

1. Kılınç G., Yılmaz G., Uskun E., Yetkin Ay Z. ve Bozkurt FY., 'Periodontoloji kliniğine başvuran hastalarda Eichner indeksi değerlendirmesi.' 7. Ege Bölgesi Dişhekimliği Odaları Uluslararası Bilimsel Kongre ve Sergisi Bildiri Özet Kitabı, 134-135, Fethiye, 2007.

2. Öztürk Tonguç M., Yetkin Ay Z., Yılmaz G., Erdek Y., Kılınç G., Kırzioğlu FY. 'Sınıf II furkasyon defektlerinin TZP ile tedavisinin uzun dönem başarısının değerlendirilmesi' 15. Ege Bölgesi Dişhekimleri Odaları Uluslararası Bilimsel Kongre ve sergisi Bildiri Özet Kitabı s.88-89, 29 Nisan-1 Mayıs 2011, Fethiye
3. Doğan B., Yılmaz G., Fentoğlu Ö., Kırzioğlu FY. 'Enzimatik olmayan antioksidanların periodontal sağlık üzerine etkisi' 15. Ege Bölgesi Dişhekimleri Odaları Uluslararası Bilimsel Kongre ve sergisi Bildiri Özet Kitabı s.49-50, 29 Nisan-1 Mayıs 2011, Fethiye
4. Yılmaz G., Torumtay G., Öztürk Tonguç M., Kırzioğlu FY. 'Dişeti çekilmelerinin tedavisinde rejeneratif yaklaşımlar' 15. Ege Bölgesi Dişhekimleri Odaları Uluslararası Bilimsel Kongre ve sergisi Bildiri Özet Kitabı s.67, 29 Nisan-1 Mayıs 2011, Fethiye