



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**PERİODONTAL OLARAK SAĞLIKLI VE KRONİK
PERİODONTİTİSLİ BİREYLERDE, SERUM D VİTAMİNİ
SEVİYESİ İLE DİŞETİ OLUĞU SIVISINDAKİ
OSTEOKALSİN VE N-TERMİNAL TELOPEPTİD
İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Burçin ÇEVİK

**SAMSUN
Haziran-2019**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**PERİODONTAL OLARAK SAĞLIKLI VE KRONİK
PERİODONTİTİSLİ BİREYLERDE, SERUM D VİTAMİNİ
SEVİYESİ İLE DİŞETİ OLUĞU SIVISINDAKİ
OSTEOKALSİN VE N-TERMİNAL TELOPEPTİD
İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Burçin ÇEVİK

Danışman

Doç. Dr. Tuğrul KIRTILOĞLU

**Samsun
Haziran - 2019**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Burçin ÇEVİK tarafından Doç. Dr. Tuğrul KIRTILOĞLU Danışmanlığında hazırlanan Periodontal Olarak Sağlıklı Ve Kronik Periodontitisli Bireylerde, Serum D Vitamini Seviyesi İle Dişeti Oluğu Sıvısındaki Osteokalsin ve N-Terminal Telopektid İlişkisinin İncelenmesi başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 21/06 /2019 tarihinde yapılan sınav ile Periodontoloji Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof.Dr. Umur SAKALLIOĞLU
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye: Doç.Dr. Tuğrul KIRTILOĞLU
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye : Doç.Dr. Bahattin AVCI
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye : Prof.Dr. Mehmet Cankat KARA
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye : Dr.Öğr.Üyesi İnci DEVRİM
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

.... / /.....

Prof. Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca desteğini hiç esirgemeyen, tecrübe ve bilgi paylaşımlarıyla mesleki hayatımda cesaret kazanmamı, davranış şekliyle hayata daha naif bakmamı sağlayan saygıdeğer danışman hocam Doç.Dr. Tuğrul Kırtıloğlu'na ve tüm OMÜ Periodontoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine;

Tez çalışmamı destekleriyle kolaylaştıran ve çalışma enerjisiyle keyifli hale getiren Sayın Doç.Dr. Bahattin AVCI'ya;

Disiplinli ve başarılı çalışma hayatına tanık olduğum için şanslı hissettiğim Sayın Prof.Dr. Tamer Türk'e;

Kapılarımı her çaldığımda tüm içtenlikleriyle destek olan, sabırlarının hiç tükenmediği değerli OMÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına, Sayın Atilla Yılmaz ve Sayın Mehmet Eceviz'e;

Birlikte güzel anılar biriktirdiğim ve çalışmaktan keyif aldığım bölüm arkadaşlarıma;

Yoğun çalışma tempom sebebiyle her gün yorgun olmama rağmen mutlu olmamı sağlayan, benden desteklerini hiç esirgemeyen tüm dostlarıma;

Her zaman bana cesaret katan, bilgiyi hayatın en önemli unsurlarından gören, sonsuz sevgileri sayesinde huzurla bu yolu da tamamlamamı sağlayan canım aileme sonsuz teşekkürler...

Bu çalışma, PYO.DIS.1904.17.019 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

PERİODONTAL OLARAK SAĞLIKLI VE KRONİK PERİODONTİTİSLİ BİREYLERDE, SERUM D VİTAMİNİ SEVİYESİ İLE DİŞETİ OLUĞU SIVISINDAKİ OSTEOKALSİN VE N-TERMINAL TELOPEPTİD İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

Amaç: Serum D vitamini düzeyi bilinen periodontal olarak sağlıklı ve periodontitisli bireylerin dişeti oluğu sıvısında (DOS) osteokalsin ve N-terminal telopeptid (NTx) markırlarının seviyesine göre, D vitamininin yapım yıkım markırları ile olan ilişkisini alveol kemiğinde incelemek amaçlandı.

Materyal ve Metot: Sistemik hastalığı olmayan, ilaç ve sigara kullanmayan, serum D vitamini seviyesi belirlenmiş, 25-40 yaş arası erkek bireyler çalışmaya dahil edildi. Dişeti sağlıklı olan 60 birey ve periodontitisli 60 birey olmak üzere toplam 120 birey çalışmaya dahil edildi. Gruplar serum D vitamini seviyelerine göre; 1.grup periodontal açıdan sağlıklı 25 hidroksivitamin D [25(OH)D] düzeyi 0-10 ng/ml olanlar, 2. grup periodontal açıdan sağlıklı 11-20 ng/ml olanlar, 3. grup periodontal açıdan sağlıklı 21-30 ng/ml olanlar, 4.grup kronik periodontitisli 25(OH)D düzeyi 0-10 ng/ml olanlar, 5. grup kronik periodontitisli 11-20 ng/ml olanlar 6. grup kronik periodontitisli 21-30 ng/ml olanlar şeklinde belirlendi. Tüm bireylerin üst çene premolar veya molar bölgelerinden alınan DOS örneklerinde osteokalsin ve NTx seviyeleri ELISA yöntemi ile belirlendi. Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edildi.

Bulgular: Serum D vitamini (0-30 ng/ml) arasında olan sağlıklı bireylerin osteokalsin total ve osteokalsin konsantrasyon değerleri, periodontitisli bireylerden daha yüksektir. Periodontitisli bireylerde osteokalsin total ortalama değeri serum D vitamini (0-10 ng/ml) olan grupta en düşüktür. NTx total değerlerinde sağlıklı ve periodontitisli bireyler arasında fark yoktur, Ntx konsantrasyon değeri sağlıklı grupta daha yüksektir.

Sonuç: Serum D vitamini seviyesi (0-30 ng/ml) altında olan; periodontal sağlıklı bireylerin DOS'unda osteokalsin miktarının, kronik periodontitisli bireylere göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: D Vitamini, Dişeti oluğu sıvısı, Osteokalsin, N-Terminal Telopeptid

Burçin ÇEVİK, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi-Samsun-Haziran-2019

ABSTRACT

**INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN OSTEOCALCIN AND
N-TERMINAL TELOPEPTID ON SERUM D VITAMIN LEVEL WITH
DERIVATIVE LEVEL IN PERIODONTAL HEALTHY AND CHRONIC
PERIODONTITIS**

Aim: The aim of this study was to investigate the relationship between vitamin D and bone formation degradation markers in the gingival crevicular fluid (GCF) according to the level of osteocalcin and N-terminal telopeptide (NTx) markers

Materials and Methods: Men who between 25-40 years of age were included in the study. A total of 120 subjects, 60 of which were healthy and 60 of them with periodontitis, were included in the study. Study groups were divided according to serum vitamin D level. Group 1, healthy as periodontal and 25(OH)D levels 0-10 ng/ml, group 2 healthy as periodontal and 11-20 ng/ml, group 3 healthy as periodontal and 21-30 ng/ml Group 4, the patients with chronic periodontitis have 25(OH)D levels 0-10 ng/ml, the 5th group had 11-20 ng/ml with chronic periodontitis and the 6th group was 21-30 ng/ml with chronic periodontitis. Osteocalcin and N-terminal telopeptide levels were determined by ELISA method in the GCF samples taken from the maxillary or molar regions of the maxilla of all individuals. Data were analyzed with IBM SPSS V23.

Results: Serum vitamin D (0-30 ng/ml) of healthy individuals between the total and osteocalcin concentrations of osteocalcin is higher than that of individuals with periodontitis. In patients with periodontitis, the total mean value of osteocalcin was the lowest in the group with serum vitamin D (0-10 ng/ml). There was no difference in NTx total values between healthy and periodontitis individuals and Ntx concentration value was higher in healthy group.

Conclusion: Serum is below vitamin D level (0-30 ng / ml); It was observed that the amount of osteocalcin in GCF of periodontal healthy individuals was higher than that of chronic periodontitis.

Keywords: Vitamin D, Gingival Crevicular Fluid, Osteocalcin, N-Terminal Telopeptid

Burçin ÇEVİK, Ph. D. Thesis
Ondokuz Mayıs University-Samsun-June-2019

SİMGELER VE KISALTMALAR

1,25(OH)₂D: 1,25 dihidroksivitamin D

25(OH)D: 25 hidroksivitamin D

ALP: Alkelen fosfataz

Ca: Kalsiyum

Ctx: Tip-I Kollajen Çapraz Bağlı Telopeptitleri C-Terminal

D VİT: D vitamini

Dk: Dakika

DOS: Dişeti oluğu sıvısı

Dpd: Deoksiyridolin

Gİ: Gingival indeks

Gla: Glutamik asit

ICTP: Tip-I Kolajen Çapraz Bağlı Telopeptid

KAS: Klinik ataşman seviyesi

Ng/ml: nanogram/ mililitre

Nmol/L: nanomol/ Litre

NTx: N-Terminal telopeptide

P: Fosfor

PICP: Prokolajen I-C Terminal

PINP: Prokolajen I-N Terminal

Pİ: Plak indeksi

PTH: Parathormon

Pyd: Pyridolin

SCD: Sondalanabilir cep derinliği

SK: Sondalamada kanama

SPTH: Sekonder paratiroid hormon

TRAcP: Tartarata dirençli asit fosfataz

VDR: D vitamini reseptörü



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Periodontal Hastalık ve Sağlık	3
2.2. Dişeti Oluğu Sıvısı ve Periodontitis	4
2.3. D Vitamini.....	5
2.3.1. D Vitamini Kaynakları ve Metabolizması.....	5
2.3.2. D Vitamini ve Kemik Metabolizmasındaki Faktörler	6
2.3.3. D Vitamini ve Periodontal Hastalıklar	7
2.3.4. D Vitamini Seviyesi	8
2.3.5. D Vitamini Eksikliğine Tedavi Yaklaşımı	10
2.4. Kemik Metabolizması İzlenmesinde Biyokimyasal Belirteçler.....	11
2.4.1. Osteokalsin ve N-Terminal Telopeptid	15
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Çalışma Grupları	20
3.2. Klinik Değerlendirme.....	20
3.3. DOS Örneklerinin Toplanması	22
3.4. Biyokimyasal Değerlendirme.....	23
3.4.1. Human Osteocalcin/Bone gla protein(OT/BGP) Konsantrasyonlarının Belirlenmesi.....	24
3.4.2. Human cross linked N-telopeptide of type I collagen (NTX) Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	25
3.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR	40
EKLER.....	47
ÖZGEÇMİŞ	52

1. GİRİŞ

Periodontitis; dişler etrafında kemik yıkımıyla karakterize, dokuların enflamutar bir hastalığıdır. Periodontal hastalığın birincil sebebinin mikroorganizmalar olduğu bilinmektedir. Periodontitis için subgingival florada bulunan *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* ve *Bacteroides forsythus* risk faktörü olarak kabul edilmiştir. Diğer risk faktörlerine örnek olarak sigara, diabet, yaş, stres, cinsiyetin erkek olması ve osteoporoz sayılabilir. Sistemik hastalıklar periodontitislerde hastalığın başlamasını ve ilerlemesini modüle eden sekonder faktörler olarak görülmektedir (Genco, 1996). Kısaca periodontitis patojen bakteri varlığını gerekli kılan, hastalık şiddeti ve yaygınlığını etkileyebilecek pek çok risk faktörünün de beraberinde olduğu kemik yıkım alanlarının varlığı ile karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır (Kinane, 2001). Dünya nüfusunun büyük kısmı periodontitisten etkilenmektedir ve hastalığın görülme riski yaşla birlikte artar. Ayrıca düşük D vitamini ve kalsiyum alımının da periodontitis için bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir (Wactawski-Wende ve ark., 2005).

Kemik yapım yıkımında önemli rol oynayan D vitamini yağda eriyen vitaminler arasında bulunan, hormon benzeri fonksiyonları olan bir grup steroldür. D vitamininin en önemli etkisi kalsiyum homeostazı ve kemik sağlığı üzerinedir (Chambe ve ark., 2007). D vitamini iskelet kas sistemi için kritik rol oynar, çene kemiklerinde de kemik kaybını engelleyen bir yardımcıdır. Yaşa bağlı kemik kaybına etkili olan en önemli ve önlenebilir etken D vitamini yetersizliğidir. D vitamini reseptörünün (VDR) 3. bölgesinde polimorfizmlerle ilgili bazı kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Bu tür polimorfizmler VDR genotipi, osteokalsin seviyesi, kemik mineral yoğunluğu ile ilişkilendirilmiştir (Hennig ve ark., 1999).

D vitamini seviyesini tespit etmek için 25 hidroksivitamin D [25(OH)D] seviyesine bakılmalıdır çünkü majör sirkulatuar formdur; hem D vitamini alımını hem endojen yapımı gösterir, yarı ömrü 2-3 haftadır. D vitamini seviyesi, 25(OH)D düzeyi; 20 ng/ml D'den düşük ise D vitamini eksikliği, 21 ile 29 ng/ml arasında ise D vitamini yetersizliği, 30 ng/ml'den yüksek ise normal D vitamini düzeyi, 150 ng/ml'den yüksek ise D vitamini intoksikasyonu olarak sınıflandırılmıştır (Holick, 2007).

Kemik, çok sayıda madde ve faktörün katıldığı yapım ve yıkım işlemlerinin birbirini takip ettiği dinamik bir dokudur. Kemığın bu aktif durumunu yakından

izleyebilmek için, yapım ve yıkım sırasında ortaya çıkan birtakım protein kaynaklı ürünlerden ve enzim ölçümlerinden faydalanılır, bunların tümüne kemiğin biyokimyasal markırları denir (Özgürtaş ve Kutluay, 2001). Kemik hastalıklarının tanısında ve takibinde radyolojik tetkikler yanında kullanılan farklı biyokimyasal markırlar bulunmaktadır. Biyokimyasal markırlar kemik hastalıklarına tanı konmasında tek başlarına yeterli değildir ancak bu markırlar kemik rezorpsiyon ve oluşum hızının en iyi göstergesi olarak kabul edilirler. Biyokimyasal markırlar; uygulanabilirlik, maliyet düşüklüğü, örnek toplanmasının kolay olması, kemik hastalıklarının izlenmesinde kısa zaman aralıkları ile yararlanabilme ve tekrarlayabilme gibi avantajları nedeniyle de önemlidir (Kargın ve Fidancı, 2002).

Kemik yapım yıkım markırlarının serum ve dişeti oluğu sıvısındaki ölçümlerde farklı olduğu, bu yüzden bölgeye özgü tepkilerin incelenmesinde dişeti oluğu sıvısının (DOS) kullanılabilmesi belirtilmiştir. Literatür incelendiğinde osteokalsinin kemik döngüsüne, N-Terminal Telopeptid (NTx)'in ise kemik yıkımına özel kemik markırı olarak DOS'da kullanıldığı çalışmalar mevcuttur (Wilson ve ark., 2003).

Osteokalsin kemik yapımı için özgün bir markır olarak kabul edilir. Osteokalsinin görevi tam olarak bilinmemektedir ancak hidroksiapatit kristalleri ve kalsiyuma bağlanır. NTx ise olgun kemik kolajeninin osteoklastlar tarafından yıkımı esnasında salınarak değişime uğramadan kemik yıkımının son ürünü olarak idrarla atılan, kemik rezorpsiyonunun ölçümünde spesifik bir kemik markırıdır (Hanson ve ark., 1992).

Bu verilerden yola çıkarak oluşturulan bu çalışmaya, D vitamini ve kemik yapım yıkımını etkileyebilecek diğer faktörleri elimine etmek amacıyla sistemik hastalığı bulunmayan ve 25-40 yaş aralığında bulunan erkek bireyler dahil edildi. Kadın bireyler hormonal değişimler göz önünde bulundurularak çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmaya sigara kullanımı olmayan bireyler dahil edilerek sigaranın periodontal dokular üzerindeki olumsuz etkisini elimine etmek amaçlandı. Çalışmamızda kemik yapım markırı olarak osteokalsin, yıkım markırı olarak da NTx kullanıldı. İncelememiz DOS örnekleri üzerinde gerçekleştirilerek, örneklerin biyokimyasal analizi Eliza ile yapıldı. Çalışmaya dahil ettiğimiz bireyleri D vitamini seviyesine göre gruplayarak, D vitamininin kemik yapım yıkım metabolizması üzerindeki etkisinin karşılaştırılması hedefledi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontal Hastalık ve Sağlık

Periodonsiyum; dişi destekleyen dokular olan dişeti, sement, periodontal ligament ve alveol kemiğinden oluşmaktadır. Periodonsiyum dişleri çene kemiğine bağlar ve gelen kuvvetlere karşı mekanik destek sağlar. Bu dokuda meydana gelen hastalıklar periodontal hastalık olarak adlandırılır (Williams, 2002).

Periodontal hastalık terimi hem gingivitis hem periodontitis durumlarını kapsar. Periodontal hastalıklar günümüzde Dünya Sağlık Örgütü'nün raporlarında, tüm toplumlarda görülen en yaygın hastalık olarak tanımlanmaktadır (Petersen, 2003).

1999'da Uluslararası çalıştayda kabul edilen sınıflandırmaya göre periodontal hastalıklar;

1. Dişeti hastalıkları
2. Kronik Periodontitis
3. Agresif Periodontitis
4. Sistemik Hastalıklarla Birlikte Görülen Periodontitis
5. Nekrozitan Periodontal Hastalıklar
6. Periodonsiyumun Apse Oluşumları
7. Endodontik Lezyonlarla Birlikte Görülen Periodontitis
8. Gelişimsel Veya Kazanılmış Deformite ve Durumlar 'dır.

Periodontal hastalık, periodontal ligament ve alveol kemiğine ilerleyerek dişin destek dokularının yıkımına sebep olur. Böylelikle, hastalığın gelişimini takiben meydana gelen doku bütünlüğündeki bozulmalar ile sağlıklı periodonsiyum mevcut klinik özelliklerini kaybeder. Dişetinde renk, kıvam, şekil ve yüzey özelliklerinde değişimler, sondlamada kanama, kolajen fibrillerinde yıkım, kök yüzeyinde ataşman kaybı, sulkus epitelinin apikale migrasyonu ve periodontal cep formasyonu görülür.

Periodontitis; periodontal cep oluşumu, klinik ataşman kaybı ve kemik yıkımıyla karakterize en sık görülen enfeksiyöz ve enflamatuvar hastalıklardan biridir (Page ve ark. 1978). Periodontitis, tedavi edilmediği takdirde dişlerde mobilite, migrasyon ve ilerleyen dönemlerde diş kayıpları görülebilir (Offenbacher, 1996).

Periodontal hastalıkların etiolojisinde bakteriler primer rol oynamaktadır. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, Spiroketler, *Campylobacter rectus*, *Treponema denticola*, *Prevotella*

nigrescense, Parvimonas micra, Fusobacterium nucleatum ve Eikenella corrodens gibi türleri içeren bakterilerin periodontitis ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Etken mikroorganizmalardan bazıları farklı periodontitis tiplerinde veya hastalığın aktif dönemlerinde ön plana çıksalar da herhangi biri tek başına periodontal hastalıktan sorumlu değildir (Listgarten, 1986).

2.2. Dişeti Oluşu Sıvısı ve Periodontitis

Dişeti oluşu sıvısı (DOS), dişeti oluşu ve bağlantı epiteli altındaki damarların geçirgenliğindeki artış sonucu oluşan enflamatuvar bir eksudadır. DOS serum kaynaklı maddeler, konak enflamatuvar hücreleri, periodonsiyumun yapısal hücreleri ve oral bakteriler gibi yapıları içeren kompleks bir karışımdır. DOS, enflamasyonlu dokulardan geçerek aktif doku yıkımına ilişkin pek çok markırı da beraberinde taşır (Cimasoni, 1983). Konak savunmasında ortaya çıkan enflamatuvar ve immün olaylarda görev alan birçok konak faktörü ve periodontal hastalığın şiddeti ile olan ilişkisi DOS'ta yapılan araştırmaların odak noktası olmuştur (Uitto ve ark., 2003).

Periodontal hastalıklardaki konak aktivitesinin incelenmesinde en az invaziv yaklaşım DOS'taki cevabın analizidir. DOS, gingival sulkustan veya periodontal cepten kağıt şeritler veya kapiller tüpler kullanılarak elde edilir. DOS, hastalıklı olmayan sulkusta az miktarda bulunmaktadır, hastalıklı dokuda miktarı daha fazladır.

Hastalıklı bir periodonsiyumda, hastalık sürecinde meydana gelen enflamatuvar cevap ürünleri DOS içerisinde tespit edilebilmektedir. Bu komponentlerin varlığının tespit edilebilmesi, hastalıkların patogenezi ile ilgili bilgilerin elde edilmesine yardımcı olur. İçeriğinin biyokimyasal olarak değerlendirilmesi hastalığın erken dönemde saptanması için oldukça önemlidir.

DOS'tan yararlanarak, bağ dokusu yıkım ürünlerinin ve kemik metabolizması ile ilişkili olduğu düşünülen birçok enzimin periodontal hastalıktaki rolü araştırılmıştır. DOS'tan elde edilen biyokimyasal markırlar, periodontal hastalığın aktif olduğu bölgelerin saptanmasında, hastalığın önceden tahmininde ve periodontal tedaviye verilen yanıtın izlenmesinde önemli yarar sağlar (Al-Shammari ve ark., 2001; AlRowis ve ark., 2014).

2.3. D Vitamini

D vitamini yağda eriyen vitaminler arasında yer alır. Uygun biyolojik ortamda endojen olarak sentezlenebildikleri için hormon ve hormon öncüleri olan bir grup sterol olarak kabul edilir. D vitamininin en önemli etkisi kalsiyum, fosfor metabolizması ve kemik mineralizasyonu üzerinedir. Kalsiyum ve fosfatın bağırsaklardan emilimini artırarak ve osteoidin olgunlaşmasını/ mineralizasyonunu uyararak kemik yapımında rol alır. Yeterli D vitamini alımı ve serumda optimum D vitamini düzeyinin korunması sadece kemik, kalsiyum ve fosfor metabolizması için değil aynı zamanda genel sağlık ve iyilik hali için de çok önemlidir (Chambe ve ark. 2007; Bringhurst, 2008).

2.3.1. D Vitamini Kaynakları ve Metabolizması

Başlıca D vitamini kaynağı; endojen olarak ultraviyole B ışınlarının deride fotokimyasal olarak 7 dehidrokolesterolden vitamin D3 (kolekalsiferol) oluşturmasıdır. Diyetle D vitamini, bitkilerde bulunan ergokalsiferol (vitamin D2) ve hayvan dokularında bulunan vitamin D3 (kolekalsiferol) şeklinde alınabilmektedir. D vitamini en fazla balık, karaciğer ve yumurta sarısında bulunmaktadır. Diyetle alınan vitamin D2 ve D3 şilomikronlarla birleşerek lenfatik sistem aracılığı ile venöz dolaşıma taşınmaktadır. Diyetle alınan veya endojen olarak yapılan vitamin D2 veya vitamin D3 yağ hücrelerinde depo edilmekte ve gerektiğinde dolaşıma salınmaktadır. Deride yapılan veya diyetle alınan D vitamini biyolojik olarak aktif değildir. Önce karaciğerde 25 hidroksilaz enzimi ile 25(OH)D'ye, daha sonra da böbreklerde 1 alfa hidroksilaz enzimi ile biyolojik olarak aktif form olan ve kalsitriol olarak da bilinen 1,25 dihidroksivitamin D'ye [1,25(OH)₂D] dönüşmektedir.

1 alfa hidroksilaz enzimi D vitamini sentezinde anahtar enzimdir. Bu enzimin düzenlenmesinde parathormon (PTH), kalsiyum (Ca), fosfor (P) ve fibroblast growth faktör 23 (FGF 23) rol oynamaktadır. Serum kalsiyum ve fosfor düzeylerinin düşmesi ve PTH düzeyi artışı D vitamini üretimini artırır. Ancak, kemikten salınarak böbrek ve ince barsak hücrelerinde Na-PO₄ kotransportuna neden olan FGF 23 ise 1,25(OH)₂D sentezini baskılar ve 24 hidroksilaz enzimini aktive ederek 1,25(OH)₂D'nin inaktif forma dönüşmesine neden olur.

Güneş ışığına fazla maruz kalınmasıyla vitamin D3 inaktif ürünlerine çevrildiği için güneş ışığı vitamin D3 intoksikasyonuna neden olmaz (Öngen ve ark., 2008; Wacker ve Holick, 2013).

1,25(OH)₂D ince bağırsak, böbrek ve diğer dokularda bulunan D vitamini reseptörleri üzerinden etkisini gösterir. Genel fonksiyonu olan kan kalsiyum düzeyinin korunmasını; ince bağırsaktan Ca absorpsiyonunu arttırarak, böbreklerden de Ca kaybını azaltarak sağlar. Ayrıca 1,25(OH)₂D vitamininin, hücre proliferasyonu inhibe edici, terminal diferansiyasyonu uyarıcı, anjiogenezi inhibe edici, insülin üretimini uyarıcı ve renin üretimini inhibe edici biyolojik etkileri vardır (Holick ve ark., 2011; Öngen ve ark., 2008). D vitamini ve metabolitleri birçok dokuda bulunan 24 hidroksilaz enzimi tarafından inaktive edilerek safra yoluyla atılmaktadır (Kasper ve ark., 2015; Wacker ve Holick, 2013).

2.3.2. D Vitamini ve Kemik Metabolizmasındaki Faktörler

Damarlar, hücreler ve kristalize kalsiyum bileşenlerinden meydana gelen, poroz mineralize bir yapı olan kemiğin, tipine ve bulunduğu bölgeye göre içeriği değişmektedir.

Kemiğin yapısal komponentleri ekstraselüler matriks, kolajen ve hücrelerden meydana gelir. Yetişkin bir insanın iskeletinde trabeküler ve kortikal olmak üzere 2 tip kemik bulunmaktadır. Mikroskobik ve makroskobik olarak farklılık gösterebilir de kimyasal kompozisyon olarak benzerdirler.

- Kortikal kemik iskeletin %80'ini oluşturur, yoğun ve kompakttır. Kortikal kemiğin yavaş bir turnover oranı vardır. Eğilme ve bükülmeye yüksek direnç gösterir. İskeletin dış kısmını oluşturan kortikal kemik büyük oranda kalsifiedir ve bu sayede koruma ve mekanik dayanıklılık sağlamaktadır. Şiddetli ve uzun süreli mineral eksikliği gibi durumlarda metabolik tepkilere katılabilir.

- Trabeküler kemik iskeletsel kütleinin %20'sini oluşturur. Daha düşük yoğunlukta, daha elastik ve daha yüksek bir turnover oranına sahiptir ve yüksek metabolik aktivite göstermektedir.

Kemik matriksi genel olarak tip 1 kolajenden oluşmaktadır. Kemiğin organik kısmının %90'ını oluşturur. Bunun haricinde ostokalsin, biglikan ve proteoglikan gibi kolajen yapıda olmayan proteinler de içermektedir (Hadjidakis ve Androulakis, 2006).

D vitamini, kemiklerde osteoblast ve osteoklast oluşumları üzerinde rol oynamaktadır. Osteoblastlar kemik mineralizasyonunda önemli rol oynayan osteokalsin üretimini ve alkalen fosfataz (ALP) yapımını arttırmaktadır. D vitamini, serum Ca ve P seviyelerinde artışa neden olmaktadır. İntestinal Ca emiliminin azaldığı durumlarda

1,25(OH)₂D vitamini osteoklastların aktivitesini arttırarak kemikten Ca mobilizasyonunu arttırır. Hipokalsemi ardından sekonder paratiroid hormon (SPTH) artışı kalsitriol sentezini uyarır. Kalsitriol, hücrelerde proliferasyonun inhibisyonuna ve diferansiyasyonuna neden olmaktadır.

D vitamini eksikliği hem kalsiyum hem de fosfor metabolizmasında anormalliklere neden olur. D vitamininin ana işlevi, serum kalsiyum konsantrasyonunu fizyolojik olarak kabul edilebilir aralıkta tutmaktır. Bu işlevini iskeletten kalsiyumun mobilizasyonunu arttırarak gerçekleştirir. D vitamini eksikliği; paratiroid bezlerindeki kalsiyum sensörü tarafından hemen tanınan, iyonize kalsiyum konsantrasyonunun düşmesine neden olur. Bu durum, parathormonun (PTH) artması, üretimi ve salgılanmasıyla sonuçlanır. PTH, böbrekte tübüler kalsiyum emilimini, 1,25(OH)₂D üretimini ve 1,25'e benzer nükleer faktör-B ligand sisteminin reseptör aktivatörünü arttırmak için osteoblastlarla etkileşerek kalsiyum metabolizmasının korunmasına yardımcı olur (Holick, 2004).

2.3.3. D Vitamini ve Periodontal Hastalıklar

Periodontal hastalıklarda D vitamini ve Ca desteğinin yararlı olduğuna dair çeşitli araştırmalar bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda D vitamini ve Ca desteği ile alveolar kemik rezorbsiyonunun ve diş kayıplarının azaldığı rapor edilmiş olsa da bu çalışmalar periodontal hastalığı direkt ölçmedikleri için sonuçları eleştirilene açıktır (Baxter, 1984; Wical ve Swoope, 1974). Sonraki tarihlerde yapılmış olan çalışmalarda D vitamini ve Ca ile periodontal hastalık arasında önemli ilişkiler gösterilmiştir (Nishida ve ark., 2000). Bu ilişkiler çene kemiklerinde azalmış kemik rezorbsiyonu ve artmış mineral yoğunluğu ile açıklanmıştır (Hildebolt ve ark., 2004). Garcia ve ark.'nın (2011) yaptıkları çalışmada günlük 800-1000 IU'den fazla Ca ve D vitamini desteğinin periodontal hastalık şiddetini azaltabileceğini göstermişlerdir. Ayrıca D vitamininin Ca ve kemik homeostazındaki rolüne ek olarak antienflamatuvar etki gösterdiğini, bunu da monosit ve makrofajlardan salınan moleküllerin ve sitokinlerin ekspresyonunu inhibe ederek ve güçlü bir antibiyotik etki göstererek sağladığını belirtmişlerdir (Liu ve ark., 2006; Walters, 1992; White, 2008).

D vitamini eksikliği ile artmış enfeksiyöz hastalıklar arasında ilişki vardır (Zittermann, 2003). Bu da D vitamininin periodontal hastalıkları önlemede sadece kemik metabolizmasına direkt etkisinin olmadığını, periodontopatojenler üzerinde

antibiyotik etkisiyle enflamatuvar medyatörleri inhibe edip periodontal yıkımı önleyebileceğini gösterir (Cochran, 2008).

2.3.4. D Vitamini Seviyesi

Günümüzde D vitamini eksikliği yaygın olarak görülmektedir. D vitamini eksikliğinin en büyük sebebi D vitamini için güneşten yararlanmak gerektiği konusundaki bilgi eksikliğidir. Az sayıda gıda doğal D vitamini içerir. D vitamini ile takviye edilmiş gıdalar, bir çocuğun veya bir yetişkinin D vitamini gereksinimini karşılamak için genellikle yetersiz kalır. D vitamini eksikliği çocuklarda raşitizme neden olur. Yetişkinlerde ise osteopeni, osteoporoz ve kırık riskini artırır. D vitamini eksikliği, otoimmün hastalıklar, kanser, hipertansiyon ve bulaşıcı hastalık riskinin artmasıyla da ilişkilendirilmiştir. D vitamininin sağlığa yararlı etkilerini en üst düzeye çıkarmak için, 25(OH)D dolaşım seviyesinin 75 nmol / L veya 30 ng / ml üstü olması gereklidir (Holick ve Chen, 2008).

D vitamini için en önemli faktörün güneş ışığı olduğu bilinmektedir. Güneşin en tepede olduğu an D vitamini üretimi için önemlidir. Sabah erken saatlerde ve akşam geç saatlerde neredeyse dünyanın hiçbir yerinde D vitamini üretimi olmaz. Kış ayları boyunca, ekimden marta kadar 35° enlemin yukarısında yaşayan bireylerde D vitamini üretimi azdır. Günde en az 15 dakika (dk) güneşe çıkan olgularda 25(OH)D vitamini düzeylerinin 20 ng/ml'den fazla olması, 20 ng/ml'den az olanlardan oran olarak daha yüksektir. 25(OH)D vitamini düzeyleri 30 ng/ml'den fazla olan olguların süt, yoğurt, peynir ve yeşil sebze meyve tüketimleri 25(OH)D vitamini düzeyleri 20 ng/ml'den az olan gruba göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Obezitenin D vitamini eksikliği ve yetersizliği için risk oluşturduğu belirtilmektedir. Obezlerde D vitamininin yağ dokusunda sekestrasyona uğrayıp, biyoyararlanımının daha düşük olması buna sebep olarak düşünülmektedir. Düşük veya yetersiz vitamin D düzeyleri, kalsiyum absorpsiyonunda azalmaya, PTH düzeylerinde artışla artmış kemik rezorpsiyonuna ve kemik kaybına neden olarak osteoporoz gelişmesine sebep olur. Fiziksel aktivite durumu ile 25(OH)D vitamini düzeyleri arasında ilişki mevcuttur. 25(OH)D vitamini düzeyi 20 ng/ml'den az olanların sadece günlük aktiviteleri yerine getirirken, 25(OH)D vitamini düzeyi 30 ng/ml'den fazla olanların egzersiz yapan bireyler olduğu saptanmıştır. Buna bağlı olarak kemik sağlığı için D vitamini yanında diğer önemli bir etkenin de düzenli fiziksel aktivite olduğunu söyleyebiliriz. Diğer yandan D vitamini

eksikliği de fiziksel aktivite düzeyini azaltarak kemik sağlığını kötü yönde etkilemektedir. D vitamini eksikliği kemik mineralizasyonunu azaltarak, kas güçsüzlüğüne ve nöromusküler koordinasyonda bozulmaya neden olur, böylece düşmelere yatkınlığı ve kırık riskini artırmaktadır, bu da bireylerin yaşam kalitesinin azalmasına sebep olur (Akpınar ve İçağasıoğlu, 2012; Anbarcıoğlu, 2012).

Ülkemizde ve dünyada D vitamini eksikliği/yetersizliği yaygın olarak görülmektedir. Günümüzde de çeşitli nedenlerle güneş ışınlarından yeterince faydalanılmamaktadır, bu durumda D vitamininden zenginleştirilmiş yiyecekler veya D vitamini destek tedavisinin önemi artmaktadır (Fidan ve ark., 2014).

Ev içinde daha çok vakit geçirilmesi, kapalı giyinme, güneşin zararlı etkilerinden sakınma amaçlı yüksek faktörlü güneş kremi kullanımı, hava kirliliği gibi nedenlerle güneş ışığı alım azlığına bağlı D vitamini yetersizliği ülkemizde de sık görülen bir sorun haline gelmektedir. Bu nedenle tüm yaş gruplarında D vitamini yetersizliği veya eksikliği olabileceği düşünülerek gerekli olgularda araştırma yapıp tedavi başlanmalıdır.

Deri kanseri açısından güneşlenme, birçok hasta ve doktor tarafından dikkatle önerilmekte olup; kol ve bacakları, saat 10:00 –15:00 arasında haftada 2 kez 5-30 dk güneşe tutmak D vitamini eksikliğini önlemede tavsiye edilmektedir. Yeterli güneş ışığı alamayan çocuklar ve erişkinler ise yeterli serum D vitamini seviyesine ulaşmak için 800-1000 IU/gün D vitamini almalıdır (Akpınar ve İçağasıoğlu, 2012).

D vitamini eksikliği ve yetersizliğinin, geniş spektrumlu akut ve kronik hastalıklar için bir risk olması muhtemeldir (Pludowski ve ark., 2013).

Kişide vitamin D düzeyinin normal, eksik veya fazla olduğunu anlamak için 25(OH)D düzeyine bakılmalıdır. Çünkü 25(OH)D yarı ömrü 2-3 hafta olan major sirkulatuar formdur. Hem Vitamin D alımını hem de endojen yapımı göstermektedir. Biyolojik aktif form 1,25(OH)₂D ideal ölçüm için uygun değildir. Çünkü yarı ömrü 4-6 saat kadar kısa ve sirkulatuar düzeyleri 25(OH)D'den 1000 kat düşüktür. Eğer hastada D vitamini yetersizliği varsa intestinal kalsiyum emilimi azalmaktadır. Buna bağlı olarak iyonize kalsiyum azalmakta, paratiroid glandlarda PTH sentez ve salınımı artmaktadır. PTH salınımının artmasına bağlı böbrekte 1,25(OH)₂D yapımı, böbreklerden kalsiyum reabsorpsiyonu ve kemikten kalsiyum mobilizasyonu artmaktadır. Sonuç olarak kişide D vitamini eksikliği olmasına rağmen PTH salınımının artmasına bağlı

olarak 1,25(OH)₂D seviyeleri normal veya artmış bulunmaktadır (Bouillon, 2001; Holick, 2006).

D vitamini yetersizliği ve eksikliğinin tanımlanmasında 25(OH)D'nin normal aralığının belirlenmesi için birçok çalışma yapılmıştır. Malabanan ve ark. (1998)'nin yapmış olduğu bir çalışmada 25(OH)D düzeyleri 11-25 ng/ml olan sağlıklı erişkinlere 8 hafta boyunca 50.000 IU vitamin D verilmesinin ardından 25(OH)D düzeylerinin ortalamadan %100 arttığı, PTH düzeylerinin 25(OH)D düzeyi 11- 15 ng/ml olanlarda %55, 16-19 ng/ml olanlarda %35 arttığı saptanmıştır, ancak 20 ng/ml'den yüksek olanlarda değişiklik saptanmamıştır. Holick ve ark. (2001)'nin yaptığı bir çalışmada 25(OH)D düzeyi ortalama 20 ng/ml olan kadınlarda intestinal Ca absorpsiyon etkinliği ölçülmüş, ardından 25(OH)D3 tedavisi verilmiştir. 25(OH)D düzeyi ortalama 32 ng/ml olduğunda intestinal Ca absorpsiyonunun %45-65 oranında arttığı bulunmuştur.

Benzer birçok çalışmadan yola çıkarak 25(OH)D düzeyi; 20 ng/ml D'den düşük ise D vitamini eksikliği, 21 ile 29 ng/ml arasında ise D vitamini yetersizliği, 30 ng/ml'den yüksek ise normal D vitamini düzeyi, 150 ng/ml'den yüksek ise D vitamini intoksikasyonu olarak belirlenmiştir. (Malabanan ve ark, 1998).

Vitamin D'nin etkilerini en etkili şekilde gösterebilmesi için serumda 30 ng/ml'den yüksek düzeyde olmalıdır. Ancak 20 ng/ml'den yüksek olması durumu da ortaya çıkabilecek olumsuz durumların önüne geçebilmektedir (Holick ve Chen, 2008).

2.3.5. D Vitamini Eksikliğine Tedavi Yaklaşımı

İnsan vücudunda bulunan D vitamininin %90-95'i normal koşullarda deride sentezlenir. Yeterli güneş ışığı alındığında takviye D vitaminine ihtiyaç yoktur, güneş ışığı temel kaynaktır (Holick, 1996). Dolayısıyla D vitamini sentezi için mevsimsel ve coğrafik farklılıklar vardır. Topikal güneş kremi kullanılması, artmış deri pigmentasyonu, ileri yaş D vitamini üretimini azaltmaktadır. 30 faktörlü güneş kremi kullanılması D vitamini üretimini %90-98 oranında azaltırken, 8 faktörlü güneş kremi kullanımında bile üretimin negatif yönde oldukça etkilendiği görülmüştür (Wacker ve Holick, 2013).

Endokrin topluluğu, yaş ve altta yatan tıbbi durumlara göre D vitamini eksikliği olan hastalar için çeşitli tedavi önerilerinde bulunmuştur.

*0-1 yaş arasında D vitamini eksikliği olan bebeklerde; 2000IU/gün ya da 50,000 IU/hafta vitamin D2 veya D3 6 hafta süreyle, bunu takiben kan 25(OH)D seviyesini 30 ng/mL'nin üzerinde tutabilmek için 400-1000 IU/gün idame tedavisi,

*1-18 yaş arasında D vitamini eksikliği olan çocuklarda; 2000 IU/gün ya da 50,000 IU/hafta vitamin D2 veya vitamin D3 6 hafta süreyle, bunu takiben kan 25(OH)D seviyesini 30 ng/mL'nin üzerinde tutabilmek için 600-1000 IU/gün idame tedavisi,

*D vitamini eksikliği olan bütün erişkinlerde; 6000 IU/gün ya da 50,000 IU/hafta vitamin D2 veya vitamin D3 8 hafta süreyle, bunu takiben kan 25(OH)D seviyesini 30 ng/mL'nin üzerinde tutabilmek için 1500-2000 IU/gün idame tedavisi,

*Obez hastalarda, malabsorbsiyon sendromu olan hastalarda ve D vitamini metabolizmasını etkileyen ilaç kullanan hastalarda yüksek doz, en azından 6000-10,000 IU/gün D vitamini ile tedavi ve 3000-6000 IU/gün dozda idame tedavisi önerilmektedir.

*Ayda iki kez 50,000 IU D vitamini verilme stratejisi 6 yıla kadar herhangi bir toksisite olmaksızın D vitamini eksikliği veya yetersizliğini tedavi etmekte ve rekürrensi önlemektedir (Holick ve ark., 2011; Wacker ve Holick, 2013).

2.4. Kemik Metabolizması İzlenmesinde Biyokimyasal Belirteçler

Kemik dokusu metabolik olarak aktif bir doku olup yaşam boyunca kemiğin remodeling süreci devam etmektedir. Remodelingin düzenlenmesinde D vitamini, PTH, seks hormonları, glukokortikoidler, prostoglandinler, kalsitonin, büyüme faktörler ve sitokinler rol alırlar (Ebeling ve Akesson, 2001).

Kemik, çok sayıda madde ve faktörün katıldığı yapım ve yıkım işlemlerinin birbirini takip ettiği dinamik ve karmaşık bir dokudur. Kemiğin bu aktif siklusunu yakından izleyebilmek için, yapım ve yıkım sırasında ortaya çıkan birtakım protein ürünleri ve enzim ölçümlerinden faydalanılır ve bunların tümüne kemiğin biyokimyasal markırları denir (Özgürtaş ve Kutluay, 2001).

Kemik döngüsünün aşamaları ile ilgili olan biyokimyasal markırlar kemik yapımı ve kemik yıkımı olarak düşünülebilir. Kemik yapım markırları osteoblastların sentezini veya prokolajen metabolizmasını değerlendirir. Yıkım markırları ise osteoklast etkinliği ve/veya kolajen parçalanmasını yansıtır. Klinik biyokimyada yapım ve yıkım aşamalarında salınan markırlar karşılaştırılarak genel kemik metabolizması da değerlendirilebilir (Kargın ve Fidancı, 2002).

Kemiğin yapımı ile ilgili biyokimyasal markırlar: Osteokalsin, Alkalen fosfataz, Prokolajen Tip-I'dir.

Kemiğin yıkımı ile ilgili biyokimyasal markırlar: Tip-I kollagen çapraz bağlı telopeptitleri, Hidroksiprolin, Piridinolin ve Deoksipiridinolin, Hidroksilizin galaktozitleri, kemik sialoproteini'dir (Kargın ve Fidancı, 2002).

Tablo 1. Biyokimyasal markırlar (Ebeling ve Akerson, 2001)

İsim	Kısaltma	Kaynak
<u>Kemik yapım göstergeleri</u>		
Kemik spesifik Alkalen Fosfataz	BSAP	Osteoblast
Osteokalsin	OC	Osteoblast
Tip I kolajen amino-terminal propeptidi	PINP	Kolajen
Tip I kolajen karboksi-terminal propeptidi	PICP	Kolajen
<u>Kemik yıkım göstergeleri</u>		
Tip I kolajen N-telopeptid çapraz bağları	NTx	Kolajen
Tip I kolajen C-telopeptid çapraz bağları	CTx	Kolajen
Tartara dirençli asid fosfataz	TRAP	Osteoblast
Hidroksiprolin ve Hidroksilizin	Hyp,Hyl	Kolajen
Serbest ve total Pridinolin	Pyr	Kolajen
Serbest ve total Deoksipiridinolin	DPD	Kolajen

Alkalen Fosfataz (ALP)

Alkalen fosfataz kemik oluşumu sırasında osteoblastik aktiviteyi gösterir. Üç farklı genden kaynaklanan 4 adet izoenzimi (plasental, intestinal, karsinoplamental, hepatik-renal/iskelet) vardır. Serumdaki alkalen fosfatazın esas kaynağı kemik ve karaciğerdir. Normal karaciğer fonksiyonu olan bir erişkinde serum ALP aktivitesinin %50'si karaciğer, %50'si ise kemik kökenlidir (Rains, 1983; Delmas, 1992).

Kemik, karaciğer ve böbrek izoenzimleri aynı genin ürünü olmalarına rağmen, dokuya spesifik posttranslasyonel glikolizasyon farklılıkları nedeniyle farklı fizyokimyasal özellikler gösterirler. Kemik alkalen fosfatazı genel kemik yapımı hakkında bilgi verir, osteoblastlar tarafından yapılır, kemik döngüsünün yapım aşamasında yüksek konsantrasyonlarda üretilir (Moss, 1982; Marshall, 1988).

Prokolajen Tip I Propeptidler [Prokolajen I-C Terminal (PICP) ve Prokolajen I-N Terminal (PINP)]

Tip I kolajenin prekürsör proteini olarak sentezlenir ve organik matriksin % 90'dan fazlasını oluşturur. N ve C terminalde heliks olmayıp kısmen globüler bölgeler içermektedir. Prokolajenin uç bölümleri (PINP ve PICP), prokolajenler hücreden serbestleştikten sonra spesifik peptidazlar tarafından kırılır. PICP ve PINP matriksin yapısına katılmayıp, ekstrasellüler matrikse verilmektedir. Tip I kolajen kemik dışı dokularda da bulunduğu için PINP ve PICP yalnızca kemiğe özgü değildir (Moss, 1982; Marshall, 1988; Garnero ve ark., 1994).

Hidroksiprolin

Hidroksiprolin vücutta tüm kolajende bulunan temel aminoasittir, kolajenin aminoasit içeriğinin % 13'ünü kapsar. Prolinden posttranslasyonel hidroksilasyonla meydana gelir. Hidroksiprolin içeren peptitler kemik ve diğer dokulardan kolajenin prolitik yıkımıyla idrara verilir. İdrarla atılan hidroksiprolin toplamın % 10'u kadardır. Geri kalan hidroksiprolinin yaklaşık % 90'ı karaciğerde metabolize edilir. Hidroksiprolin Tip-I kolajenin sentezinden de açığa çıkar. İdrar hidroksiprolini diyetdeki kolajenden etkilenir. Paget hastalığı, osteoporoz, metastaz yapmış kanser gibi durumlarda idrar hidroksiprolini yaygın olarak kullanılan bir parametredir (Parfitt ve ark., 1987; Epstein, 1988; Delmas, 1992).

Kemik yıkımının göstergesi olarak kullanılmasına rağmen karaciğerde hızla metabolize edilmesi ve orijininin sadece kemik kolajeni olmaması nedeniyle iyi bir belirteç değildir (Kargın ve Fidancı, 2002).

Hidroksilizin

Kolajende hidroksilizin kalıntıları, hidroksiproline göre daha azdır ve kolajen biyosentezinde tekrar kullanılmaz. Hidroksilizin kalıntılarının tamamına yakını Galaktozil-hidroksilizine glikozillenir ve bu partiküler formu Tip-I kolajende boldur. Tamamına yakını idrarla atılır ve diyetten etkilenmez. Diyetten etkilenmediği için kemik kolajen yıkım hızını hidroksiproline göre daha doğru olarak verir. Hidroksilizinin iki formu vardır: (3,1-galaktozil-0-hidroksilizin (GH) ve a 1,2-glukozil-galaktozil-0-hidroksilizin (GGH). GH kemik kolajen yıkım belirteçidir, GGH ise daha çok deri kolajeni içinde bulunur ve deri kolajen yıkım belirteçidir. Bu belirteçlerin

kullanılmasındaki problemlerden biri, analiz için kullanılan tekniğin maliyetinin yüksek olmasıdır (Marshall; 1988; Cosman, 1995; Alverez ve ark., 2000)

Pyridinium Türevleri [Pyridolin (Pyd) ve Deoksipyridolin (Dpd)]

Deoksipyridolin, iki hidroksilizin ve bir lizin kalıntısının kondansasyonu ile, komşu alfa zincirlerinde meydana gelir ve olgun kolajen fibrilleri yıkıldığı zaman açığa çıkar. Pyridolin ise üç hidroksilizin kalıntısından meydana gelir (Marshall, 1988; Kent, 1997).

Pyd kırıkta, tendon, ligament ve kan damarlarında bulunmaktadır. Dpd ise sadece kemiğe özgüdür. Pyd ve D-Pyd'nin her ikisi de deri kolajeninde bulunmaz ve idrarla atılımları diyet kolajeninden etkilenmez. Hiperparatiroidizm, paget, osteoporozda idrardaki konsantrasyonları artmaktadır (Kargın ve Fidancı, 2002).

Tartarata Dirençli Asit Fosfataz (TRAcP)

TRAcP, aktif kemik yıkımı esnasında osteoklastlardan salgılanan bir enzimdir. Asit fosfatazın 6 adet izoenziminden bir tanesidir. TRAcP osteoklastlarda büyük miktarlarda bulunmaktadır ve kemik rezorpsiyonunda salgılanır. TRAcP diğer hücrelerde de özellikle makrofajlarda mevcut olup 19. kromozom üzerinde lokalize olan bir gen tarafından kodlanır (Christenson, 1997; Price ve ark., 1995)

Asit fosfatazın kemik metabolizması markırı olarak kullanımı ile ilgili veriler yeterli değildir. Bu durum analitik problemler veya enzimin direkt olarak dolaşıma değil de korumalı osteoklast mikroortamına verilmesi ile bağlantılı olabilir (Marshall, 1998).

Kemik Sialoproteini (BSP)

Kemik nonkollojen matriksinin %5-10'unu oluşturur. Osteoblastlar tarafından sentezlenmektedir ve kemiğin kolajen olmayan organik matriksinin önemli bir bileşenidir. Sialoprotein düzeyleri kemik yıkımı ile ilişkili uyumlu sonuçlar vermektedir. Osteoporozda yükselmektedir (Kaplan, 1987)

Tip-I Kolajen Çapraz Bağlı Telopeptitleri C-Terminal (ICTP veya Ctx)

Ctx'in yapısı üç polipeptid zincirinin trivalen çapraz bağlarla bağlanmasıyla oluşmuştur. Ctx fragmanı kolajenin benzer iki a-1 zincirinin C-terminal telopeptitleriyle komşu kolajen molekülünün helikal bölgesine bağlıdır.

Tip-I kolajenin yıkımından sonra serumda Ctx seviyesi yükselir. Ctx'in serumdaki konsantrasyonu osteomalasi ve hiperparatiroidizmde olduğu gibi metabolik

kemik rahatsızlıklarında kemik yıkımının oranlarıyla uyum göstermektedir. Romatoid artrit, multiple myeloma, karsinom kaynaklı kemik metastazlarında da yükselmektedir. Ctx konsantrasyonları sistematik sklerozis ve karaciğer fibrozisindeki gibi yumuşak dokulardaki Tip-I kolajen döngüsü hızlandığı zaman da yükselmektedir (Marshall, 1988; Kargın ve Fidancı, 2002).

Ctx bazı patolojik durumlarda kolajen yıkımının göstergesi olarak kullanılabilir. Ancak menopoz öncesi dönem, östrojen tedavisi gibi durumlarda fizyolojik kemik emilimindeki değişikliklerin ölçülmesinde uygun değildir (Kargın ve Fidancı, 2002). Ctx kemik rezorpsiyonunun yanısıra yumuşak doku yıkımlarını da gösterebilir bu yüzden NTx, Ctx'e göre kemik yıkımının takibi için daha hassas bir belirteçtir. NTx, periodontal kemik kaybı ve tedavisi için de önemli bir markıdır (Wilson ve ark., 2003).

2.4.1. Osteokalsin ve N-Terminal Telopektid

Kemik dokusu, metabolik olarak aktif ve dinamik bir doku olarak sürekli yeniden şekillenir. Yaşam boyu kemik dokusunun canlılığını; birbirini takip eden, yıkım, yapım ve mineralizasyon olayları sağlar. Kemğin yeniden şekillenmesi, kemik yapımından sorumlu hücreler olan osteoblastlar ve kemik yıkımından sorumlu osteoklastların aktivasyonu sonucu gerçekleşir (McCauley ve Nohutcu, 2002). Kemik metabolizmasının biyokimyasal markırları, osteoblast ve osteoklastlardan salınan maddeler ile kemiğe özgü kolajen yıkım ürünleridir (Swaminathan, 2001). Bu biyokimyasal markırlar, kemik yapımının ve yıkımının izlenmesinde kullanılmaktadır (Parfitt ve ark., 1987). Kemik yapım ve yıkımının biyokimyasal markırları dolaylı yoldan kemik kaybının hızı hakkında fikir vermekte ve böylece metabolik kemik hastalıklarının risk tayininde, tedavi seçiminde ve tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesinde fayda sağlamaktadırlar (Raisz ve ark., 2000).

Serum osteokalsin değerleri kemik yapımının bir göstergesi olarak, idrar ya da serum N-telopektid değerleri ise kemik yıkımının bir göstergesi olarak en sık kullanılan klinik testlerdir (Lian ve Stein, 2001). Wilson ve arkadaşları (2003) osteokalsin ve NTx'in dişeti oluşu sıvısında değerlendirilebildiğini, bunun bölgenin analizinde etikili olduğunu belirtmiştir.

Periodontal kemik, trabeküler kemik ve kortikal kemiğin kombinasyonundan oluşur. Yüzey/hacim ilişkisi trabeküler kemikte kortikal kemikten daha yüksektir, bu

trabeküler kemiğin daha fazla metabolik aktiviteye sahip olduğunu gösterir. Osteokalsin ve NTx kemiğin organik matriksi içinde bulunan ve dişeti oluğu sıvısında değerlendirilebilen kemik markırlarıdır (Wilson ve ark., 2003).

Osteokalsin

Osteokalsin (diğer adıyla kemik γ karboksiglutamik asit –Gla protein veya BGP) kemik, dentin ve diğer mineralize dokuda çok miktarda bulunan ve diğer hiçbir dokuda gösterilememiş olan Ca bağlayan bir proteindir. Molekül ağırlığı türlere göre 5210-5889 arasında değişen bu protein 46-50 aminoasitten oluşur (Poser ve ark., 1980).

Osteoblastlar tarafından sentezlenen osteokalsin, kemik Gla proteini olarak da adlandırılır. Osteokalsin K vitaminine bağımlıdır, sentezi kemikte yapılır ve glutamik asit (Gla) bulduran bölgesi diğer K vitaminine bağımlı koagülasyon faktörlerinden farklıdır. Osteokalsin, normal kemik mineralizasyonunun sağlanmasında gerekli olan ve kalsiyum metabolizmasını düzenleyen hormonlar (kalsitonin, paratiroid hormon, D vitamini) tarafından direkt olarak etkilenir (Hauschka ve ark., 1989).

Hormonal durumdaki değişiklikler dolaşımdaki osteokalsin düzeyini etkiler. Östrojen, liroid hormon, paraliroid hormon, 1,25-dihidroksikolekalsiferol ve siklik adenozinmonofosfal (cAMP) direkt olarak osteokalsin gen transkripsiyonunu ve mRNA düzeylerini etkiler. 1,25-dihidroksikolekalsiferol verilmesi osteokalsin düzeyini hızla arttırmasına rağmen endojen D vitamini düzeyleri ile korelasyon göstermez. D vitamini eksikliğinde düşük veya normal osteokalsin düzeyleri gözlenmiştir (Cole ve ark., 1985; Kruse ve Kracht, 1986).

Ostekalsinin biyolojik fonksiyonu kesin olarak bilinmiyorsa da bu konuda yapılan araştırmalar oldukça spesifik osteoblastik bir markır olduğunu ve kemik formasyonu sırasında oluştuğunu göstermiştir. Kemik patolojilerinde osteokalsin diagnostik bir parametre olarak klinik önem kazanmaktadır. Serum oskeokalsin düzeyi kemiği ilgilendirmeyen hastalıklarda tamamen normaldir. Osteokalsin biyosentezi direkt olarak üç vitamin ile ilgilidir; bunlardan K vitamini Gla formasyonunu, C vitamini hidroksiprolin oluşumunu, D vitamini osteokalsin yapımının uyarılmasını sağlar (Glowacki ve Lian, 1987).

Kemik yapım aktivitesinin önemli bir göstergesi olan osteokalsin çok çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahiptir. Osteokalsin, mineral depolanmasında ve kemiğin yeniden şekillenmesinde önemli rol oynar. Kalsiyum iyonunu kemik matrisine bağlayan

bu protein gelişen kemikte mevcuttur ve kemik oluşumuna katkıda bulunur. Kalsiyum iyonlarının özgül Gla bağlarına bağlanmasında ve bunların üzerine hidroksilapatit kristallerinin çökmesinde önemli rol oynar. Çünkü içerdiği üç g-karboksiglutamik asid ile hidroksilapatit kristallerine yüksek afinite gösterir. Osteokalsin, osteoklast öncü hücrelerinin dışında periferel kan monositleri için de kemoatraktan aktivite gösterir ve lökosit elastazlarının baskılanmasına yol açar (Hauschka ve ark., 1989).

Yapılan cross-sectional çalışmalar DOS'daki osteokalsin seviyelerinin periodontal hastalık aktivitesiyle ilişkili olduğunu göstermiştir (Kunimatsu ve ark., 1993). Osteokalsin oranlarının tespitiyle, aktif kemik kaybı önceden tespit edilebilir. Osteokalsin aktif kemik kaybının bir prediktörü olabilir ve bu kliniğe de geçirilerek hastaların hastalığının aktif bölgeleri direkt belirlenebilir (Yamalı, 2015).

N-Terminal Telopektid

NTx, kemiğin organik matrisinin % 90'ını oluşturan tip I kolajene özgü bir yapıdır. Olgun kemik kolajeninin osteoklastlar tarafından yıkımı esnasında salınır ve değişime uğramadan idrarla atılır. NTx, kemik dokusuna özgü bir markır olup, kemik yıkımının stabil bir son ürünü olarak idrarda bulunur. Bu nedenle klinikte NTx, kemik yıkımının ölçümünde spesifik bir gösterge olarak kullanılmaktadır (Szulc ve Delmas, 2001). Bir çalışmada kronik periodontitis hastalarının DOS'unda NTx' in lokal olarak arttığı gösterilmiştir. Kemik yıkımının özgün bir markırı olan NTx'in periodontal hastalığın patogenezindeki rolünü ortaya koyan sınırlı sayıda araştırma mevcuttur (Wilson ve ark., 2003).

Kemiğin biyokimyasal markırları için kullanılan yöntem ve kullanım yaygınlığı şekil 2'de gösterilmiştir (Ebeling ve Akesson, 2001)

Tablo 2. Biyokimyasal göstergeler ve ölçüm yöntemleri (Ebeling ve Akerson, 2001)

Gösterge	Yöntem	Özgüllük	KullanımYaygınlığı
Total ALP	Kalorimetrik	-	++++
Kemik ALP	ELISA	+++	++
PICP/PINP	RIA	+++	++
Osteokalsin	RIS,ELISA	+++	+++
Hyp	Kalorimetrik	+	++
Total Piridinolin	HPLC	++	+
Serbest DPD	ELISA	+++	+++
NTx	ELISA	+++	+++
CTx	ELISA	++	++

Çalışmamızın amacı; D vitamini seviyesinin alveolar kemikte kemik yapım yıkım metabolizması üzerindeki etkisini belirleyebilmek, dişeti oluşu sıvısından topladığımız örnekler ile inceleme fırsatı bulduğumuz osteokalsin ve NTx'in D vitamini ile ilişkisini değerlendirmektir. Çalışmamız DOS'da; periodontal olarak sağlıklı ve kronik periodontitisli bireylerin, D vitamini seviyesinin periodontal dokularda osteokalsin ve NTx'e etkisini inceleyen ilk çalışmadır.

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmamıza Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji ve Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Kliniklerine başvuran, 25-40 yaş arası, erkek, sistemik hastalığı bulunmayan ve D vitamini seviyesi tespit edilmiş, 60 sağlıklı ve 60 periodontitisli olmak üzere toplam 120 hasta dahil edildi. Örnek büyüklüğü, yapılan güç analizi neticesinde %95 güven aralığında %5 duyarlılığa sahip olacak şekilde basit tesadüfi örnekleme yöntemi kullanılarak belirlendi.

Çalışmaya başlamadan önce Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Araştırma Etik komisyonu tarafından gerekli etik kurul onayı alındı (Etik kurul karar no:2017/60). Çalışmaya dahil edilen tüm bireylere araştırmanın amacı ve içeriği detaylı olarak anlatıldıktan ve aydınlatılmış onam formları imzalatıldıktan sonra araştırmaya başlandı.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri

- Erişkin erkek
- 25-40 yaş aralığında
- Sigara kullanımı olmayan
- Sistemik olarak sağlıklı
- OMÜ Tıp Fakültesi Endokrinoloji bölümünde D vitamini düzeyi belirlenmiş

- Herhangi bir ilaç kullanımı olmayan
- D vitamini tedavisi görmemiş
- Son 6 ayda periodontal tedavi görmemiş

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri

- Kadın birey
- Sigara kullanan
- Sistemik bir hastalığa sahip (Diabetes Mellitus, Hipertiroidizm, Malabsorbsiyon, Karaciğer ve Renal yetmezlik, Osteoporoz tedavisi alanlar)
- 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmüş
- Düzenli ilaç kullanan
- Gönüllü olur onayı vermeyen
- İyi kooperasyon kurulamayan

3.1. Çalışma Grupları

Çalışmaya dahil edilen sağlıklı ve periodontitisli hastalar D vitamini seviyelerine göre gruplara ayrıldı.

Grup1: Periodontal açıdan sağlıklı 25(OH)D düzeyi 0-10 ng/ml olanlar

Grup2: Periodontal açıdan sağlıklı 25(OH)D düzeyi 11-20 ng/ml olanlar

Grup3: Periodontal açıdan sağlıklı 25(OH)D düzeyi 21-30 ng/ml olanlar

Grup4: Kronik periodontitisli 25(OH)D düzeyi 0-10 ng/ml olanlar

Grup5: Kronik periodontitisli 25(OH)D düzeyi 11-20 ng/ml olanlar

Grup6: Kronik periodontitisli 25(OH)D düzeyi 21-30 ng/ml olanlar

Periodontitisli hastalar periodontal tedavi başlanmadan önce çalışmaya dahil edildi. Tüm hastalardan panoramik film çekilerek radyografik değerlendirme yapıldı. Çalışmaya dahil edilen bireylerde standart oluşturmak için periodontal muayene tek bir klinisyen tarafından tamamlandı.

3.2. Klinik Değerlendirme

Periodontal durumu belirlemek için periodontal muayenede rutin olarak her hastadada kullanılan; ağızdaki plak oluşumu ve birikim derecesini ölçmek için Silness-Löe (1963) Pİ (plak indeksi), dişeti enflamasyonu değerlendirmek için Löe-Silness (1967) Gİ (gingival indeksi), SK (sondalamada kanama) (Ainamo and Bay 1975), SCD (sondalanabilir cep derinliği), klinik ataşman seviyesi (KAS) ölçümü ve alveoler kemik kaybının radyografik değerlendirilmesi (tüm hastalardan kemik kaybı belirlenmesi için rutin panoramik radyograflar alındı) işlemleri kullanıldı. SCD, KAS, Gİ ve Pİ değerleri Williams Sondası (Hu-Friedy, Chicago, IL, A.B.D) kullanılarak kaydedildi.

Pİ: Ağızdaki plak oluşumu ve birikim derecesini ölçmek için periodontal sond dişeti kenarına yakın bölgede diş yüzeyine paralel olarak dişeti oluğu bölgesinde gezdirilerek biriken plak miktarı skorlanır.

(0) Bakteri plağı yok.

(1) Gözle fark edilmeyen ancak sond sulkusta gezdirildiğinde fark edilen plak.

(2) İnceden orta kalınlığa kadar plak kaplıdır, çıplak gözle izlenebilir.

(3) Yumuşak eklenti fazladır ve sulkusu doldurur şeklinde değerlendirilir

(Silness ve Löe, 1964).

Gİ: Dişeti enflamasyonunun teşhisi için periodontal sond dişin uzun aksına dik olacak şekilde dişeti kenarına temas ettirilip diş yüzeyinde gezdirilerek oluşan kanama ve dişeti yüzey özelliklerine göre skorlama yapılır.

(0) Dişeti rengi normal.

(1) Renkte hafif değişiklik, hafif ödem, provoke kanama yok.

(2) Kırmızılık, ödem, parlaklık, provoke ile kanama var.

(3) Belirgin kırmızılık ve ödem, spontan kanamaya eğilim şeklinde değerlendirilir (Löe ve Silness, 1963).

SK: Her dişin 6 bölgesinden (meziobukkal, distobukkal, meziolingual, distolingual, midbukkal, midlingual) periodontal sonda ile sulkus içinde kuvvet uygulamadan hafifçe gezilerek incelenen bölge, kanama varsa (+) veya yoksa (-) şeklinde değerlendirilir (Ainamo ve Bay, 1975).

CD: Patolojik periodontal cep oluşumu ölçmek için klinikte rutin olarak kullanılan periodontal sond dişeti içinde dişin uzun aksına paralel olarak itilip ilk direnç görülen yerde durularak dişeti kenarı ile cep tabanı arasındaki mesafe ölçülür. Her dişin 6 bölgesinden (meziobukkal, distobukkal, meziolingual, distolingual, midbukkal, midlingual) milimetrik olarak Williams sondu ile ölçüm yapılır.

KAK: Bağ dokusu atışmanı yıkımı tespiti için cep derinliği ölçümüne benzer olarak her dişin 6 bölgesinden (meziobukkal, distobukkal, meziolingual, distolingual, midbukkal, midlingual) sondalanabilir cep tabanı ile dişin mine-sement sınırı arası ölçülerek yapılır.

Yapılan değerlendirmenin ardından sağlıklı olarak teşhis edilmiş, herhangi bir şikayeti bulunmayan, radyografik olarak alveolar kemikte herhangi bir bölgede kemik kaybı görülmemiş hastaların maksiller premolar ve molar bölgesinden, izolasyon yapılarak DOS örnekleri alındı.

Periodontitis teşhisi konulmuş hastaların radyografik incelemesi yapıldıktan sonra maksiller bölgede en belirgin kemik yıkımının olduğu, sondalanabilir cep derinliği (SCD) 5 mm üzerinde olan bölgesinden izolasyon yapılarak DOS örnekleri alındı.

3.3. DOS Örneklerinin Toplanması

DOS örneğinin kalitatif ve kantitatif değişikliklerini elimine etmek amacıyla klinik ve radyografik parametrelerin alındığı günden bir sonraki gün DOS örnekleri toplandı.

DOS örnekleri boyutları ve emiciliği standart olan 2x14 mm ebatında kağıt şerit periopaper (Periopaper®, Ora Flow Inc., Amityville, NY, USA) ile toplandı.



Şekil 1. Periopaper

DOS örneği alınmadan önce;

- İşlem bölgesi pamuk rulo tamponlarla izole edildi.
- Tükürük kontaminasyonu engellendi.
- Eğer varsa supragingival plak steril bir alet yardımıyla dişetine temas etmeden uzaklaştırıldı.

- Bölge steril pamuk palet ve hava spreyi ile kurutuldu.

Kağıt şeritler maksiller premolar/molar dişlerde, sulkus içerisine 2-3 mm kadar, mekanik irritasyon oluşturmadan ilerletildi. Sulkus içerisinde aynı pozisyonda 30 sn bekletilerek yeterli hacimde DOS elde edilmeye çalışıldı. Periodontitisli hastalardan dişin kemik yıkımının fazla olduğu yüzeyden, sağlıklı bireylerde dişin bukkal yüzeyinden 1 periopaper kullanarak örnek toplandı.

Bu işlem sırasında tükürük ya da kanla kontamine olan örnekler kullanılmadı. DOS hacimleri, elektriksel kapasitans değişimleri ile kağıt şeritteki DOS miktarını

belirleyen, hızlı ve hassas bir tekniğe sahip olan, kalibrasyonu yapılmış Periotron 8000 (Periotron® 8000, Pro Flow Inc., Amityville, NY, A.B.D.) cihazı ile ölçüldü.



Şekil 2. Periotron® 8000 Cihazı

Toplanan DOS örnekleri steril ependorf (Eppendorf AG, Hamburg, Almanya) tüplere konuldu. Ependorf tüpler biyokimyasal analiz yapılana dek Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda -80°C ' de saklandı.

3.4. Biyokimyasal Değerlendirme

Çalışmamız Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında ELISA yöntemi ile yapıldı.

Dişeti oluğu sıvısı örnekleri 10000 g da 15 dk santrifuj edildi ve elde edilen süpernatantlar çalışma için ayrıldı. Örnekler vorteks yardımıyla iyice karıştırıldı. Örnekler çalışma gününe kadar -80°C de saklandı.



Şekil 3. Ependorf Tüpler

3.4.1. Human Osteocalcin/Bone gla protein(OT/BGP) Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Dişeti oluğu sıvısı OT/BGP konsantrasyonları Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvar'ında ticari olarak piyasada bulunan Human OT/BGP ELISA kit (Shanghai YL Biotech Co.Ltd. Cat No. YLA1183HU, Shanghai, China) ile sandwich enzim immunosorbent assay yöntemi ile çalışıldı. Tüm çalışma çözeltileri taze olarak hazırlandı ve kullanmadan önce oda ısısında (25 °C) bekletildi.

Human OT/BGP standartı kullanılarak seri dilüsyon yöntemiyle, 5 adet standart (S1-5 ng/mL, S2-10 ng/mL, S3-20 ng/mL, S4-40 ng/mL, ve S5-80 ng/mL) hazırlandı. ELISA plate üzerinde blank, standartlar ve örnekler için kuyucuklar belirlendi. Blank kuyucuğuna Chromogen A, Chromogen B ve stop çözeltisi dışında herhangi bir şey eklenmedi. Standartlara örnekler ile aynı prosedürü uygulandı. Her bir kuyucuğa 50µL standart (S1-S5) pipetlendi ve her bir örnekten 40 µL + 10 µL OT/BGP-antikoru pipetlendi. Daha sonra standartlar ve örneklere 50 µL Streptavidin-Horse Radish Peroksidaz eklenerek 37°C' de 60 dk. inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında plate otomatik yıkayıcı yardımıyla 5 kez 350 µL yıkama solusyonu ile yıkandı. Tüm kuyucuklara 50 µL Chromogen A ve 50 µL Chromogen B ilave edilerek 37°C' de 10 dk. inkübasyona bırakıldı. Sonrasında 50 µL stop solusyonu pipetlenerek

reaksiyon durduruldu. Çalışma sonunda TECAN marka Micro plate reader kullanılarak 450 nm dalga boyunda absorbanslar okundu.

Numune Human OT/BGP konsantrasyonları standart değerleri kullanılarak oluşturulan standart eğriye göre hesaplandı ve elde edilen konsantrasyonlar ng/mL olarak ifade edildi. Ortalama inter-assay CV < % 10, intra-assay CV ise < % 8 idi. Kit sensitivity 0.26 ng/mL ve assay range 0.5 ng/mL-150 ng/mL olarak verilmişti. Yüksek konsantrasyonlu örnekler iki kez çalışılarak doğrulandı.



Şekil 4. Biyokimyasal Analiz

3.4.2. Human cross linked N-telopeptide of type I collagen (NTX) Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Dişeti oluğu sıvısı NTx konsantrasyonları Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında ticari olarak piyasada bulunan Human NTx ELISA kit (Shanghai YL Biotech Co.Ltd. Cat No. YLA0594HU, Shanghai, China) ile sandwich enzim immunosorbent assay yöntemi ile çalışıldı. Tüm çalışma çözeltileri taze olarak hazırlandı ve kullanmadan önce oda ısısında (25 °C) bekletildi.

Human NTx standartı kullanılarak seri dilüsyon yöntemiyle, 5 adet standart (S1-7.5 nmol/L, S2-15 nmol/L, S3-30 nmol/L, S4-60 nmol/L, ve S5-120 nmol/L) hazırlandı. ELISA plate üzerinde blank, standartlar ve örnekler için kuyucuklar belirlendi. Blank kuyucuğuna Chromogen A, Chromogen B ve stop çözeltisi dışında herhangi bir şey eklenmedi. Standartlara örnekler ile aynı prosedürü uygulandı. Her bir kuyucuğa 50µL standart (S1-S5) pipetlendi ve her bir örnekten 40 µL + 10 µL NTx-antikoru pipetlendi. Daha sonra standartlar ve örneklere 50 µL Streptavidin-Horse Radish Peroksidaz eklenerek 37°C’ de 60 dk. inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında plate otomatik yıkayıcı yardımıyla 5 kez 350 µL yıkama solusyonu ile yıkandı. Tüm kuyucuklara 50 µL Chromogen A ve 50 µL Chromogen B ilave edilerek 37°C’ de 10 dk. inkübasyona bırakıldı. Sonrasında 50 µL stop solusyonu pipetlenerek reaksiyon durduruldu. Çalışma sonunda TECAN marka Micro plate reader kullanılarak 450 nm. dalga boyunda absorbanslar okundu.

Numune Human NTx konsantrasyonları standart değerleri kullanılarak oluşturulan standart eğriye göre hesaplandı ve elde edilen konsantrasyonlar nmol/L olarak ifade edildi. Ortalama inter-assay CV <% 10, intra-assay CV ise <%8 idi. Kit sensitivity 0.26 nmol/L ve assay range 0.5 nmol/L-200 nmol/L olarak verilmişti. Yüksek konsantrasyonlu örnekler iki kez çalışılarak doğrulandı.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edildi. Normal dağılıma uygunluk Shapiro Wilk testi ile incelendi. Normal dağılmayan ölçüm değerlerine Log10 dönüşümü yapılarak normalleştirildi. Normalleştirme işlemi sonrasında Log10 dönüşümlü verilerin grupların (sağlıklı ve periodontitis) ve D Vitamini düzeylerinin (0-10, 11-20, 21-30 ng/ml) etkileri iki yönlü varyans analizi ile incelendi. İki yönlü varyans analizinde hem grupların hem de D Vitamini düzeylerinin ana etkileri ve etkileşimi incelendi. Etkileşimlerin anlamlı bulunduğu durumlarda tek yönlü varyans analizi ile etkileşimler Tukey HSD ve Tamhane’s T2 ile incelendi. Analiz sonuçları ortalama \pm s.sapma olarak sunuldu. Önem düzeyi $p<0,05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

Araştırmaya dahil edilen kişiler klinik ve radyografik verilere dayanarak sağlıklı ve periodontitisli olarak belirlenen erkek bireylerden oluşturulmuştur. Sağlıklı ve periodontitisli olarak belirlenen her iki grup 60 birey olmak üzere toplam 120 birey üzerinde değerlendirilme yapılmıştır. İki grup da D vitamini seviyesine göre düşük (0-10ng/ml), orta(11-20ng/ml), yüksek(21-30ng/ml) olarak isimlendirdiğimiz alt gruplara ayrılmıştır. Değerlendirmemiz sağlıklı ve periodontitisli gruplar arasında tüm D vitamini gruplarını kapsayacak şekilde, sağlıklı grup içinde D vitamini seviyesine göre, periodontitis grup içinde D vitamini seviyesine göre ve D vitamini seviyesine göre sağlıklı ve periodontitisli gruplar arasında karşılaştırma yapmak üzere dört parametre (osteokalsin total, osteokalsin konsantrasyon, NTx total, NTx konsantrasyon) üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3. Sağlıklı ve Periodontitisli bireylerin D vitamini düzeylerine göre osteokalsin total ortalama değerlerinin karşılaştırılması

	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	p
Ana Grup	0,377	1,000	0,377	31,864	<0,001
Ana Grup içi	0,015	2,000	0,007	0,628	0,536
Alt Gruplar Arası	0,133	2,000	0,067	5,622	0,005

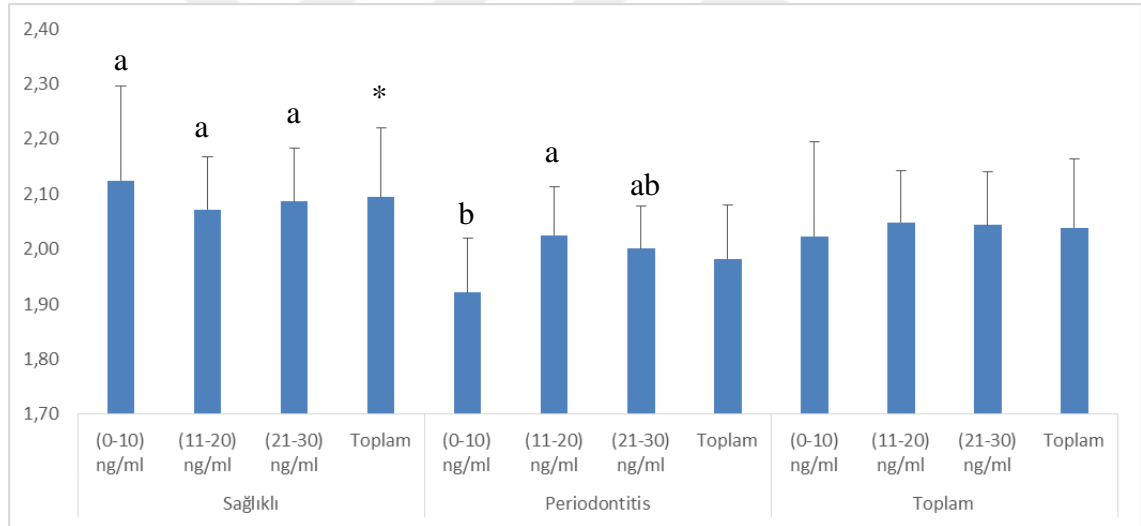
Osteokalsin total verileri normal dağılıma uymadığı için Log10 dönüşümü yapılarak veriler normalleştirilmiştir. Osteokalsin total için veriler tablo 3 ve 4’de gösterilmiştir. Log10 dönüşümlü osteokalsin total ortalama değerleri üzerinde ana grupların etkileri istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). Sağlıklı grupta ortalama değer 2,094 iken periodontitisli grupta ortalama değer 1,982 olarak elde edilmiştir. Sağlıklı grupta ortalama değer periodontitis grubuna göre daha yüksek elde edilmiştir. D Vitamini grup içi etkisi ortalama osteokalsin total üzerinde anlamlı bir etkiye sahip değildir ($p=0,536$). D vitamini (0-10 ng/ml) arası olanlarda ortalama değer 2,023 iken (11-20 ng/ml) arası olanlarda 2,048 ve (21-30 ng/ml) arası olanlarda da 2,043 olarak elde edilmiştir. Sağlıklı ve Periodontitis grupları ve D Vitamini düzeyi etkileşimi ortalama osteokalsin total üzerinde anlamlı bir etkiye sahiptir ($p=0,005$). Periodontitis grubunda D Vitamini (0-10 ng/ml) düzeyine sahip olanların ortalama değeri (1,921) ile

periodontitis grubunda D Vitamini düzeyi (21-30 ng/ml) arasında olanların ortalama değeri (2,001) arasında istatistiksel olarak fark yoktur. Periodontitis grubunda D Vitamini (0-10 ng/ml) düzeyine sahip olanların ortalama değeri diğerlerinin tamamından daha düşük ortalama değere sahiptir.

Tablo 4. Osteokalsin Total için tanımlayıcı istatistikler (Log10 Değerler)

D Vitamini	Sağlıklı	Periodontitis	Toplam
Düşük(0-10 ng/ml)	2,124 ± 0,170a	1,921 ± 0,099b	2,023 ± 0,172
Orta (11-20 ng/ml)	2,072 ± 0,096a	2,025 ± 0,087a	2,048 ± 0,093
Yüksek (21-30 ng/ml)	2,086 ± 0,097a	2,001 ± 0,077ab	2,043 ± 0,097
Toplam	2,094 ± 0,126	1,982 ± 0,098	2,038 ± 0,125

Veriler aritmetik ortalama ± s.sapma olarak verildi. a-b: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında fark yoktur.



Şekil 5. Sağlıklı - Periodontitisli Gruplar ve D Vitamini düzeylerine göre osteokalsin total ortalama ve standart sapma grafiği

*Sağlıklı grup ile Perodontitisli gruplar arasında fark vardır, a-b: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında fark yoktur.

Tablo 5. Sağlıklı - Periodontitisli Gruplar ve D vitamini düzeylerine göre osteokalsin konsantrasyon ortalama değerlerinin karşılaştırılması

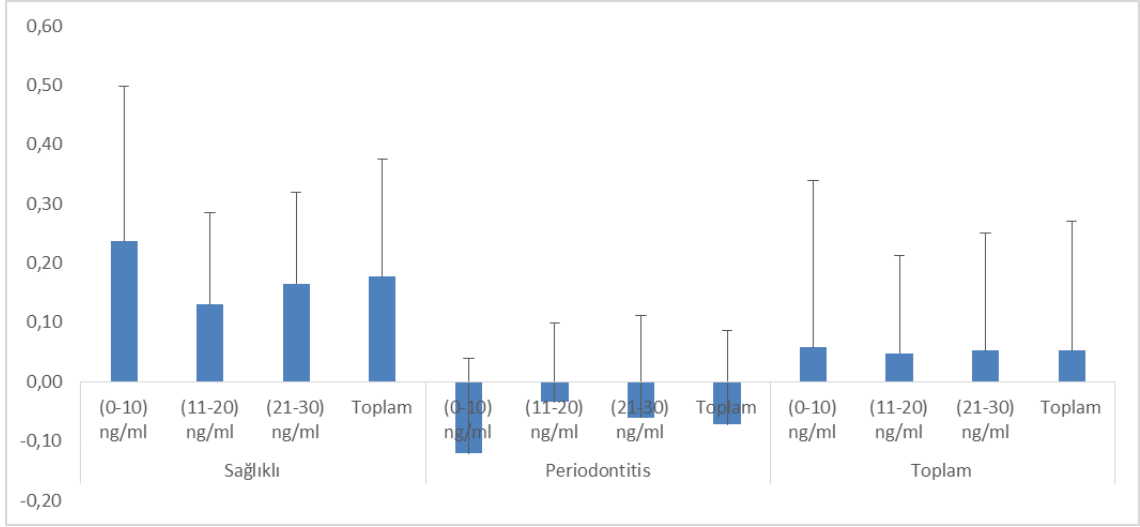
	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Ana Grup	1,865	1,000	1,865	59,143	<0,001
Ana Grup İçi	0,002	2,000	0,001	0,030	0,971
Alt Gruplar Arası	0,194	2,000	0,097	3,080	0,050

Osteokalsin konsantrasyon verileri normal dağılıma uymadığı için Log10 dönüşümü yapılarak veriler normalleştirilmiştir. Osteokalsin konsantrasyon için veriler tablo 5 ve 6'da gösterilmiştir. Log10 dönüşümlü osteokalsin konsantrasyon ortalama değerleri üzerinde sağlıklı ve periodontitisli grupların etkileri istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$). Sağlıklı grupta ortalama değer 0,177 iken periodontitis grupta ortalama değer -0,072 olarak elde edilmiştir. Sağlıklı grupta ortalama değer periodontitis grubuna göre daha yüksek elde edilmiştir. D Vitamini grup içi etkisi ortalama osteokalsin konsantrasyon üzerinde anlamlı bir etkiye sahip değildir ($p = 0,971$). Benzer şekilde sağlıklı - periodontitisli grup ile D Vitamini düzeyi etkileşimi de istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip değildir ($p = 0,050$).

Tablo 6. Osteokalsin Konsantrasyon için tanımlayıcı istatistikler (Log10 Değerler)

D Vitamini	Sağlıklı	Periodontitis	Toplam
Düşük(0-10 ng/ml)	0,236 ± 0,262	-0,121 ± 0,16	0,057 ± 0,281
Orta(11-20 ng/ml)	0,13 ± 0,154	-0,034 ± 0,134	0,048 ± 0,165
Yüksek(21-30 ng/ml)	0,165 ± 0,154	-0,061 ± 0,172	0,052 ± 0,198
Toplam	0,177 ± 0,198	-0,072 ± 0,158	0,052 ± 0,218

Veriler aritmetik ortalama ± s.sapma olarak verildi.



Şekil 6. Sağlıklı - Periodontitisli Grup ve D Vitamini düzeylerine göre osteokalsin konsantrasyon ortalaması ve standart sapma grafiği

Tablo 7. Sağlıklı - Periodontitisli Grup ve D vitamini düzeylerine göre NTx total ortalama değerlerinin karşılaştırılması

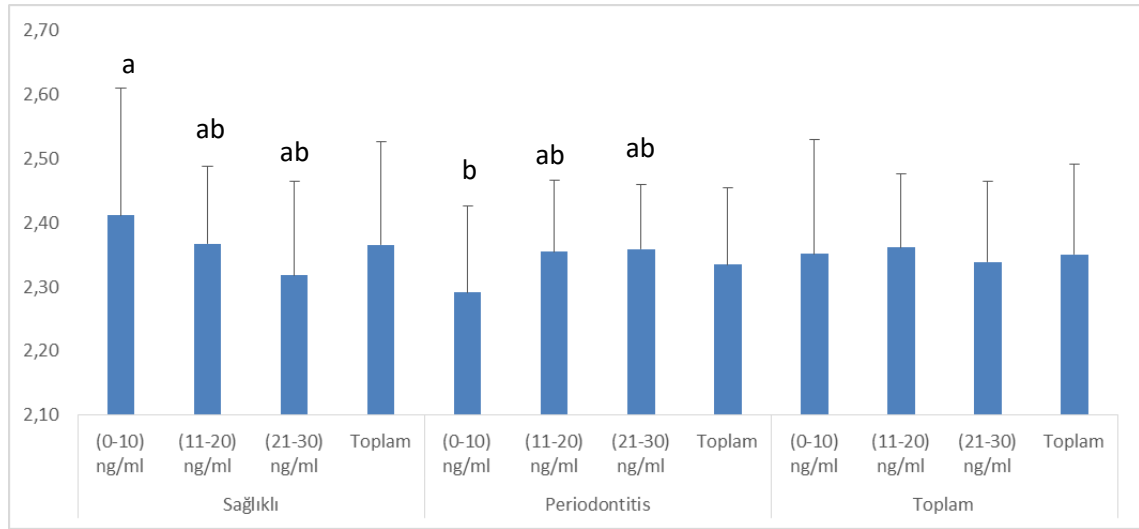
	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	p
Ana Grup	0,028	1,000	0,028	1,446	0,232
Ana Grup İçi	0,010	2,000	0,005	0,264	0,769
Alt Gruplar Arası	0,135	2,000	0,068	3,510	0,033

NTx total verileri normal dağılıma uymadığı için Log10 dönüşümü yapılarak veriler normalleştirilmiştir. NTx total için veriler tablo 7 ve 8'de gösterilmiştir. Log10 dönüşümlü NTx total ortalama değerleri üzerinde sağlıklı ve periodontitisli grupların etkileri istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,232$). Sağlıklı grupta ortalama değer 2,365 iken periodontitis grupta ortalama değer 2,334 olarak elde edilmiştir. D Vitamini grup içi etkisi ortalama NTx total üzerinde anlamlı bir etkiye sahip değildir ($p=0,769$). Alt gruplar ile NTx total etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahiptir ($p=0,033$). Sağlıklı gruptaki düşük D Vitaminine (0-10 ng/ml) sahip olanların ortalama değeri, periodontitis grubunun düşük D Vitaminine sahip olanlardan daha yüksek elde edilmiştir. Diğer tüm etkileşimler arasında istatistiksel olarak fark yoktur.

Tablo 8. NTx Total için tanımlayıcı istatistikler (Log10 Değerler)

D Vitamini	Sağlıklı	Periodontitis	Toplam
Düşük(0-10 ng/ml)	2,411 ± 0,198a	2,290 ± 0,135b	2,351 ± 0,178
Orta(11-20 ng/ml)	2,367 ± 0,121ab	2,354 ± 0,111ab	2,360 ± 0,114
Yüksek(21-30 ng/ml)	2,317 ± 0,146ab	2,359 ± 0,101ab	2,338 ± 0,126
Toplam	2,365 ± 0,160	2,334 ± 0,119	2,350 ± 0,141

Veriler aritmetik ortalama ± s.sapma olarak verildi. a-b: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında fark yoktur.



Şekil 7. Sağlıklı - Periodontitisli Grup ve D Vitamini düzeylerine göre NTx total ortalama ve standart sapma grafiği

a-b: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında fark yoktur.

Tablo 9. Sağlıklı - Periodontitisli Grup ve D vitamini düzeylerine göre NTx konsantrasyon ortalama değerlerinin karşılaştırılması

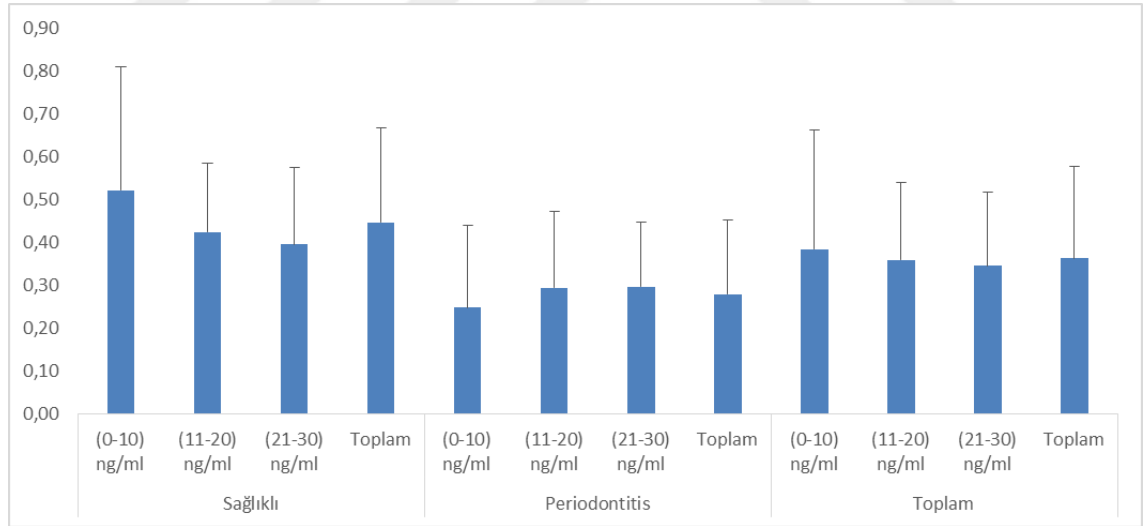
	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Ana Grup	0,844	1,000	0,844	21,702	<0,001
Ana Grup İçi	0,031	2,000	0,016	0,399	0,672
Alt Gruplar Arası	0,174	2,000	0,087	2,242	0,111

NTx konsantrasyon verileri normal dağılıma uymadığı için Log10 dönüşümü yapılarak veriler normalleştirilmiştir. Ntx konsantrasyon için veriler tablo 9 ve 10'da gösterilmiştir. Log10 dönüşümlü NTx konsantrasyon ortalama değerleri üzerinde sağlıklı ve periodontitisli grupların etkileri istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$). Sağlıklı grupta ortalama değer 0,448 iken periodontitis grupta ortalama değer 0,280 olarak elde edilmiştir. D Vitamini grup içi etkisi ortalama NTx konsantrasyon üzerinde anlamlı bir etkiye sahip değildir ($p = 0,672$). Alt gruplar ile NTx total etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip değildir ($p = 0,111$).

Tablo 10. NTx konsantrasyon için tanımlayıcı istatistikler (Log10 Değerler)

D Vitamini	Sağlıklı	Periodontitis	Toplam
Düşük(0-10 ng/ml)	0,522 ± 0,288	0,248 ± 0,192	0,385 ± 0,279
Orta(11-20 ng/ml)	0,425 ± 0,162	0,295 ± 0,180	0,360 ± 0,181
Yüksek(21-30 ng/ml)	0,396 ± 0,180	0,297 ± 0,151	0,347 ± 0,171
Toplam	0,448 ± 0,220	0,280 ± 0,174	0,364 ± 0,215

Veriler aritmetik ortalama ± s.sapma olarak verildi.



Şekil 8. Sağlıklı - Periodontitisli Grup ve D Vitamini düzeylerine göre NTx konsantrasyon ortalama ve standart sapma grafiği

5. TARTIŞMA

Periodontal hastalığın kemik yıkımıyla karakterize multifaktöriyel bir hastalık olduğu bilinmektedir. Periodontitis varlığında alveol kemiğinde yıkım meydana gelmektedir. Hastalığın başlamasında mikroorganizmalar primer etiyolojik faktör olmasına rağmen, konağın immünolojik ve enflamatuvar cevabı, bağ dokusu ve kemik metabolizması, çevresel, kazanılmış ve genetik risk faktörleri periodontal hastalığın türünde ve şiddetinde önemli rol oynarlar (Kornman, 1996; Page ve ark., 1978). Hastanın konak cevabı hastalığa yatkınlığını etkileyen önemli bir faktördür. Periodontal hastalıkların fizyopatolojisi ve etyopatolojisine yönelik çalışmalar günümüzde yerini periodontal hastalıkların patogeneziindeki temel mekanizmaların anlaşılmasına bırakmışlardır. Ayrıca sistemik hastalıkların periodontal durum ve konak cevabına olan etkileri de araştırılmaktadır (Iacopino ve Cutler, 2000; Oringer, 2002).

Periodontoloji alanında yapılan çalışmalar hastalık sürecinin anlaşılması ve teşhise yönelik testlerin geliştirilmesi amacıyla DOS analizi üzerinde durmaktadır (Persson ve Page, 1990). DOS, periodontal dokunun homeostazını sağlar ve dental plak bakterilerine karşı koruyucu yanıtın bir parçası olarak görev görür. DOS analizi, mevcut periodontal durumun teşhis edilmesi ve değerlendirilmesi için yararlı olabilir. Osteoblast ve osteoklastlardan salınan maddeler ile kemiğe özgü kolajen yıkım ürünleri kemik yıkım ve yapımının izlenmesinde kullanılmaktadır. Aktif kemik yıkımı esnasında konak ve patojenlere ait proteolitik enzimler, osteokalsin fragmanlarının üretimine ve bu fragmanların ekstraselüler matristen DOS'a salınımına neden olmaktadır. NTx kemik kolajenin osteoklastlar tarafından proteolitik yıkımı esnasında ortaya çıkan, kemik yıkımı için spesifik bir markıdır. Osteokalsin ve NTx, DOS'ta inceleme imkanı bulduğumuz kemik markırlarındandır (Baumgrass ve ark., 1997; Parfitt ve ark., 1987). DOS örneklerindeki kemik yapım yıkım markırlarının alveol kemiğindeki rezorpsiyondan ya da lokal osteoblastik aktiviteden kaynaklandığı bildirilmiştir (Ducy ve ark., 2000; Lee ve ark., 1999).

DOS örneklerinin toplanmasının invaziv olmayan bir yöntem oluşu önemli bir avantajdır (Griffiths, 2003). Dişeti oluşu sırasında kemik yapım yıkım markırlarının değerlendirildiği farklı çalışmalar vardır. Literatür incelendiğinde osteokalsinin kemik döngüsünde, NTx'in kemik yıkımında; kemik markırı olarak kullanıldığı çalışmalar mevcuttur (Wilson et al., 2003; Öztürk ve ark., 2016). Kemik yapım yıkım markırlarının

incelenebilmesine izin vermesi, non-invaziv çalışma imkanı sunması ve maliyetinin düşük olması gibi özelliklerinden dolayı biz de çalışmamızda DOS kullanımını tercih ettik.

D vitamini periodontal dokular için önem teşkil etmektedir. Anbarcıoğlu ve arkadaşları (2012)'nin yapmış olduğu çalışmada düşük serum D vitamini seviyesinin periodontal hastalığın hızı ve şiddetini arttıran faktörlerden biri olabileceği bildirmiştir. D vitamini seviyesi, 25(OH)D düzeyi; 20 ng/ml D'den düşük ise D vitamini eksikliği, 21 ile 29 ng/ml arasında ise D vitamini yetersizliği, 30 ng/ml'den yüksek ise normal D vitamini düzeyi, 150 ng/ml'den yüksek ise D vitamini intoksikasyonu olarak sınıflandırılmıştır (Holick, 2007). Ülkemizdeki bireylerde D vitamini seviyesi düşüktür, D vitamini eksikliği/yetersizliği yaygın olarak görülmektedir (Fidan ve ark., 2014). Serum D vitamini seviyesi 30 ng/ml üzerinde bulunan ve bizim şartlarımızı sağlayan birey sayısı az olduğundan çalışmamızda D vitamini seviyesini sınıflandırmak için (0-10) ng/ml , (11-20) ng/ml, (21-30) ng/ml olmak üzere üç grup oluşturarak değerlendirme yapmayı hedefledik. Her üç grubumuz için de sağlıklı ve periodontitisli bireylerde ayrı incelemeler gerçekleştirdik.

DOS'da kemik yapım yıkım markılarını inceleyen çok sayıda çalışma mevcuttur. Nakashima ve ark., (1994)'nin yapmış olduğu çalışmada 6 ay boyunca periodontal tedavi görmemiş ve antibiyotik kullanmamış 17 bireyde DOS' da osteokalsin değerlendirmesi yapılmıştır. 17 bireyin 6'sı sağlıklı, 3'ü gingivitisli, 8'i kronik periodontitislidir. Çalışmaya farklı yaş gruplarından kadın ve erkek bireyler dahil edilmiştir. Kanimatsu ve ark. (1993)'nin yapmış olduğu çalışmaya ise bir yıl boyunca periodontal tedavi görmemiş ve mineralize doku homeostazını etkileyen sistemik hastalığı bulunmayan; en küçük 18 en büyük 60 yaş olmak üzere 8'i erkek 11'i kadın toplam 19 hasta dahil edilmiştir. Kavrut ve ark. (2006)'nin 60 bayan bireyde gerçekleştirdikleri çalışmada gruplar 15 sağlıklı, 15 gingivitisli, 15 periodontitisli, 15 osteoporoz olan periodontitisli bireyler olarak belirlenmiştir. Becerik ve ark., (2011) ise kadın ve erkeklerin bulunduğu 20 şer bireyden oluşan 4 grupta çalışmasını gerçekleştirmiş, çalışmasına sigara kullanmayan, sistemik hastalığı olmayan, 4 aydır periodontal tedavi görmemiş bireyleri dahil etmiştir. Ayrıca postmenapozal, hamile, emziren, oral kontraseptif kullanan kadınları çalışmasına dahil etmemiştir.

Literatürdeki çalışmaları incelediğimizde standardizasyonu sağlamak ve D vitamini metabolizmasını etkileyecek faktörleri elimine etmek amacıyla çalışmamızda gruplarımızı 25-40 yaş, erkek, sigara kullanmayan, sistemik hastalığı bulunmayan, 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmemiş ve ilaç kullanımı olmayan bireylerden oluşturduk. Her grup için çalışmamıza 20 birey dahil ederek çalışmamızı toplam 120 birey üzerinde gerçekleştirdik.

Nakashima ve ark. (1994)'nın yapmış olduğu çalışmada osteokalsinin periodontal olarak sağlıklı ve gingivitisli bireylerde saptanması osteokalsinin normal kemik metabolizmasının önemli bir markırı olduğunu göstermektedir. Çalışmada DOS osteokalsin seviyesinin sağlıklı bireylerde, gingivitisli ve periodontitisli bireylere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Kunimatsu ve ark. (1993)'nin yapmış olduğu çalışmada, DOS osteokalsin seviyesinin, periodontal enflamasyonun şiddetine göre değişkenlik gösterdiği, enflamasyonun şiddeti arttıkça DOS osteokalsin seviyelerinin arttığı, orta ve şiddetli periodontitis hastalarında osteokalsinin sağlıklı hastalara göre daha yüksek olduğu saptamıştır. Kavrut ve ark. (2006)'nin yapmış olduğu çalışmada periodontal hastalığın şiddetinin artmasıyla DOS örneklerindeki osteokalsin ve ALP miktarının arttığı, tedavi sonrasında ise bu değerlerin azaldığı tespit edilmiştir.

Bizim çalışmamızda yapmış olduğumuz DOS analizleri sonucu elde ettiğimiz verilerde; sağlıklı grupta ortalama osteokalsin total ($p<0,001$) ve osteokalsin konsantrasyon ($p<0,001$) değerlerinin periodontitis grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ancak sağlıklı ve periodontitisli bireylerin bulunduğu gruplarımızda osteokalsin total değerine ayrı ayrı baktığımızda D vitamini seviyesine göre gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Sağlıklı ve periodontitis tüm gruplarımıza baktığımızda osteokalsin seviyesinin periodontitisli ve D vitamini seviyesi en az olan (0-10 ng/ml) grupta en düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir. Kunimatsu ve arkadaşlarının çalışmasını referans aldığımızda osteokalsinin bu grupta en yüksek olmasını beklerdik. Yapılan çoğu çalışmada osteokalsin seviyesinin periodontitiste, sağlıklı duruma göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise osteokalsin seviyesinin sağlıklı grupta periodontitise göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Bullon ve ark. (2005), menapoz sonrası dönemdeki osteopenik, osteoporötik ve sağlıklı kemiğe sahip kadınlarda DOS osteokalsin seviyelerini benzer, periodontitisli

kadınların DOS osteokalsin seviyelerini ise periodontal hastalığı olmayan kadınlardan iki kat yüksek bulmuşlardır. Bullon ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada osteokalsin seviyesinin osteoporötik durumla ilgisi olmadığı periodontal durumla ilişkili olduğu yorumu yapılmıştır.

Baumgrass ve ark. (1997), yaptıkları çalışmada aktif kemik rezorpsiyonu süresince osteokalsin ve osteokalsin fragmanlarının ekstrasellüler matriksten DOS içerisine salındığını belirtmiştir.

Lee ve ark. (1999), DOS içerisindeki osteokalsin miktarının periodontal hastalık için potansiyel bir markır olabileceği düşüncesiyle yaptıkları çalışmada, sağlıklı alanlar (≤ 3 mm sulkus derinliği) ile periodontitisli alanlardan (≥ 6 mm cep derinliği) aldıkları DOS örneklerindeki osteokalsin miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulamadıklarını belirtmişlerdir. Bu çalışmada kronik periodontitisli bireylerin periodontitis ve sağlıklı bölgelerindeki DOS osteokalsin seviyelerinin benzer bulunması, periodontitis bölgesinde artış göstermemiş olması sistemik etkili faktörlerin osteokalsin seviyesi üzerinde etkili olabileceğini düşündürülebilir.

Osteokalsin, osteoblastların spesifik bir ürünüdür. İnsan osteokalsin geni birinci kromozomda lokalizedir. Osteokalsin geninin transkripsiyonel kontrolüyle sinyal yolu arasındaki ilişkiye birçok biyolojik parametre katkıda bulunmaktadır. Vitamin D varlığında transkripsiyon maksimal düzeylere çıkar. Osteokalsin geninin promoter bölgesinde vitamin D yanıt elemanı bulunmaktadır; bu, osteoblast diferansiyasyonu boyunca osteokalsin ekspresyonunun bazal düzeylerini artırıcı fonksiyona sahiptir. Osteoblastlardan osteokalsin üretiminin transkripsiyonel regülasyonu $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ tarafından, sekresyonu ve kemik/plazma dağılımı K vitamini tarafından sağlanır. Osteokalsin sentezi için D vitaminine, karboksilasyonu için K vitaminine ihtiyaç vardır. Bu nedenle D ve K vitaminlerinin durumu osteokalsin için önemlidir. Osteokalsinin biyolojik fonksiyonu kesin olarak bilinmiyorsa da bu konuda yapılan araştırmalar oldukça spesifik osteoblastik bir markır olduğunu ve kemik formasyonu sırasında oluştuğunu göstermiştir (Nakashima ve ark., 1994; Uğurlu, 2010).

Bu veriler ile karşılaştırma yaptığımızda çalışmamızdaki gruplarımızın D vitamini seviyesi 30ng/mg altı bireylerden oluştuğunu göz önünde bulundurursak, diğer çalışmaların aksine osteokalsinin sağlıklı grupta periodontitis grubuna göre yüksek olmasında D vitamini yetersizliği ve eksikliğinin etkili olduğunu düşünebiliriz. Holick

ve Chen (2008), D vitamininin etkisini gösterebilmesi için serumda 30 ng/ml üzerinde olması gerektiğini savunmuştur. Yapılan çalışmalarda kemik yapım yıkım döngüsüne bağlı olarak yıkım etkisini azaltmak için osteokalsinin arttığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda periodontitis durumunda osteokalsin artışının olmaması, D vitamini yetersizliği ve eksikliği (30ng/ml'den düşük) sonucunda olduğunu düşündürebilir.

Giannobile ve ark. (1995), deneysel periodontitis oluşturdıkları köpeklerde kemik yıkımının aktif olduğu dönemde osteokalsin ve Tip-I Kolajen Çapraz Bağlı Telopektid seviyelerini yüksek bulurken, diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirmesinden sonra kemik yıkımındaki azalma ile birlikte hem osteokalsin hem de ICTP seviyelerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuç, kemik yıkım markırı olduğu bilinen ICTP için normal karşılanırken, kemik yapım markırı olduğu bilinen osteokalsin için çelişkili bir durum yaratmaktadır yorumu getirilmiştir. Wilson ve ark. (2003), NTx'in ICTP'ye göre kemik yıkımını ölçmede daha hassas bir markır olduğunu savunmuştur.

Becerik ve ark. (2011)'nın, kronik periodontitis ve sağlıklı bireyleri içeren çalışmasında NTx total değeri her iki grup için benzer çıkmıştır. NTx konsantrasyon değeri ise kronik periodontitisli grupta sağlıklı gruba göre daha düşük çıkmıştır. Becerik'in Ntx açısından elde etmiş olduğu sonuç çalışmamızla paralellik göstermektedir. Çalışmamızda NTx total için sağlıklı ve periodontitis grubumuzda anlamlı farklılık ($p=0,232$) gözlenmezken, NTx konsantrasyon için anlamlıdır ($p<0,001$). Sağlıklı grupta Ntx konsantrasyon değerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ancak Yamalı ve ark. (2015)'nin çalışmasında 20 kronik periodontitisli ve 20 sağlıklı bireyden oluşan iki grupta NTx total ve NTx konsantrasyon sonuçları benzerlik göstermiş, her iki değer kronik periodontitisli grupta sağlıklıya göre yüksek olduğu belirtilmiştir. Wilson ve ark. (2003)'ün Ntx'in aktif kemik yıkımının bir göstergesi olabileceğini düşünmüştür. Becerik ve ark. (2011); NTx'in kronik periodontitisli bireyler ve sağlıklı bireylerde benzer, generalize agresif periodontitisli bireylerde ise kronik periodontitisli bireylere göre düşük olduğunu, Ntx ile daha fazla çalışma yapılması gerekliliğini belirtmiştir.

Dolaşımdaki osteokalsinin kemik yapımı sırasında yeni sentezlenmiş veya yıkım sırasında ortama verilmiş olabileceği, bu nedenle osteokalsinin osteoblast aktivitesi belirteci olup olmadığını tartışan araştırmacılar vardır. Ancak genel olarak

osteokalsin osteoblast aktivitesi göstergesi olarak kabul edilmektedir (Marshall, 1988; Cosman, 1995; Boskey ve ark., 1984; Alvarez ve ark., 2000).

Osteoblastik aktivite ile ilgili olarak D vitamini seviyesinin etkili olduğunu göz önünde bulundurduğumuzda, periodontitis grubunda osteokalsinde artışın olmayışını düşük D vitamini seviyesinden kaynaklandığını düşünebiliriz. Bu sebeple D vitamini 30 ng/ml'nin altında olan periodontitisli bireylerde iyileşmeyi sağlamak için D vitamini tedavisinin yardımcı olacağı yorumu yapılabilir.

Araştırmamız periodontal sağlıklı ve kronik periodontitisli bireylerde serum D vitamini seviyesinin DOS osteokalsin ve NTx üzerindeki etkisini inceleyen ilk çalışmadır. Bu nedenle, bulgularımızı bu konu ile ilgili yapılmış çalışmalarla karşılaştırma olanağı bulunamamıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın sınırları dahilinde;

1. Periodontitisli bireylerin bulunduğu grupta serum D vitaminine göre sınıflanan üç grup arasında osteokalsin total için istatistiksel olarak anlamlı fark vardır. D vitamini (0-10 ng/ml) olan periodontitis grubunda osteokalsin total değeri, (11-20 ng/ml) olan periodontitis grubundan düşüktür. D vitamini (0-10 ng/ml) olan periodontitis grubunun ortalama osteokalsin total değeri diğer grupların tamamından daha düşük değere sahiptir.

2. D vitamini seviyesi (0-10 ng/ml) olan sağlıklı grupta osteokalsin total değeri, D vitamini (0-10 ng/ml) olan periodontitis grubundan yüksektir.

3. Sağlıklı grupta D vitamini seviyesi (0-10 ng/ml) olanların NTx total değeri, periodontitis grubunda D vitamini (0-10 ng/ml) olanlardan daha yüksektir.

4. Sağlıklı bireylerin bulunduğu grupta osteokalsin total ve osteokalsin konsantrasyon değeri, periodontitisli bireylerin bulunduğu gruba göre yüksektir.

5. Periodontitisli hastaların tedavisinde, serum D vitamini seviyesinin değerlendirilmesi ve D vitamini eksikliği/yetersizliği tespitinde D vitamini takviyesi yapılması tedavi prognozunu olumlu etkileyebilir.

6. Hasta sayısını artırarak ve serum D vitamini seviyesi 30ng/ml üzerinde olan bireyler çalışmaya dahil edilerek, tedavi öncesi ve sonrasını kapsayan uzun takip süreli çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International dental journal*. 1975;25(4), 229-235.
- Akpınar P, İçağasıoğlu A. The relation between vitamin D and quality of life. *Türk Osteoporoz Dergisi*. 2012;(18):13-18.
- AlRowis R, AlMoharib HS, AlMubarak A, Bhaskardoss J, Preethanath RS, Anil S. Oral fluid-based biomarkers in periodontal disease–Part 2. Gingival crevicular fluid. *Journal of international oral health*. JIOH 2014;(6):126.
- Al-Shammari KF, William VG, Aldredge WA, Iacono VJ, Eber RM, Wang HL and Oringer RJ. Effect of non-surgical periodontal therapy on C-telopeptide pyridinoline cross-links (ICTP) and interleukin-1 levels. *Journal of Periodontology*. 2001;(72):1045-1051.
- Alvarez L, Ricos C, Peris P, Guanabenez N, Monegal A, Pons F, Ballesta AM. Components of biological variations of biochemical markers of bone turnover in Paget's Bone disease. 2000;26:571-576.
- Anbarcıoğlu E. Agresif ve Kronik Periodontitisli Bireylerde Serum D vitamini Seviyesinin İncelenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Doktora Tezi, 2012; 40-50.
- Baumgrass R, Williamson MK, Price PA. Identification of peptide fragments generated by digestion of bovine and human osteocalcin with the lysosomal proteinases cathepsin B, D, L, H, and S. *Journal of Bone and Mineral Research* 1997;(12):447-455.
- Baxter JC. The nutritional intake of geriatric patients with varied dentitions. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 1984;(51):164-168.
- Becerik S, Öztürk VÖ, Atmaca H, Atilla G, Emingil G. Gingival crevicular fluid and plasma acute-phase cytokine levels in different periodontal diseases. *Journal of periodontology*. 2011;83 (10),1304-1313.
- Boskey AL, Posner AS. Bone structure, composition and mineralization. *Symposium on Metabolic Bone Disease*. 1984;(5): 597-613.
- Bouillon R. Vitamin D: Photosynthesis, metabolism, and action to clinical applications. *Endocrinology*. 2001; 1009-1028.
- Bringhurst FR. Bone and mineral metabolism in health and disease. *Harrison's principles of internal medicine*. 2008; 2365-2377.
- Bullon P, Goberna B, Guerrero JM, Segura JJ, Perez-Cano R, Sahuquillo A. Serum, saliva, and gingival crevicular fluid osteocalcin: their relation to periodontal status

- and bone mineral density in postmenopausal women. *Journal of periodontology* 2005;76(4), 513-519.
- Chambe PC, DE Harvey, and DE Ferrier. *Biyokimya lippincott's illustrated reviews 3*. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapev. 2007; 387-87.
- Chirstenson RH. Biochemical markers of bone metabolism, an overview. *Clin. Biochem* 1997;30: 573-93.
- Cimasoni G. Crevicular fluid updated. *Monogr Oral Sci.* 1983;(12):45-102.
- Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *Journal of Periodontology.* 2008;(79)1569-1576.
- Cole DE, Carpenter TO, Gundberg CM. Serum osteocalcin concentrations in children with metabolic bone disease. *The Journal of pediatrics* 1985;(106):770-776.
- Cosman F. Use of biochemical markers in the diagnosis and management of osteoporosis. Paper presented at a conference on Bone Mass Measurement in Osteoporosis and Other Bone Diseases, Los Angeles, National Osteoporosis Foundation 1995;11:9-11.
- Delmas PD. Biochemical Markers of Bone Turnover in Osteoporosis *Bone* 1992;13:17-21.
- Ducy P, Schinke T, Karsenty G. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science.* 2000;(289):1501-1504.
- Ebeling PR, Åkesson K. Role of biochemical markers in the management of osteoporosis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology.* 2001;(15): 385-400.
- Epstein S. Serum and urinary markers of bone remodeling: Assesment of bone turnover. *Endocrine Review* 1998;437-449.
- Fidan F, Alkan BM, Tosun A. Çağın pandemisi: D vitamini eksikliği ve yetersizliği. *Türk Osteoporoz Dergisi.* 2014;20: 71-4.
- Garcia M, Hildebolt C, Miley D. One-year Effects of Vitamin D and Calcium Supplementation on Chronic Periodontitis, *J Periodontal.* 2011;82: 25-32.
- Garnero P, Gineyts E, Karpf DB. Comparision of new Biochemical Markers of Bone Turnover in Male Postmenopausal Osteoporotic Women in Response to Alendronate Treatment. *J Endocrinol Metab.* 1997;79:1693-1700.
- Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases. *Journal of Periodontology.* 1996;(67):1041-1049.

- 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. *Journal of clinical periodontology*. 1995;22(12):903-910.
- Glowacki J, Lian JB. Impaired recruitment and differentiation of osteoclast progenitors by osteocalcin-deplete bone implants. *Cell differentiation* 1987;(21):247-254.
- Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid', *Periodontology* 2000. 2003;(31):32-42.
- Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006;(1092): 385-396.
- Hanson DA, Weis MA, Bollen AMK, Maslan SL, Singer FR, Eyre DR. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: Quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1992;(7): 1251-1258.
- Hauschka PV, Lian JB, Cole DE, Gundberg CM. Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiological reviews*. 1989;(69): 990-1047.
- Hennig BJ, Parkhill JM, Chapple IL, Heasman PA, Taylor JJ. Association of a vitamin D receptor gene polymorphism with localized early-onset periodontal diseases. *Journal of Periodontology*. 1999;(70):1032-1038.
- Hildebolt CF, Pilgram PK, Dotson M, Armamento-Villareal R, Hauser J, Cohen S, Civitelli R. Estrogen and/or calcium plus vitamin D increase mandibular bone mass. *Journal of Periodontology*. 2004;(75): 811-816.
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CH. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011;(96):1911-1930.
- Holick MF, Chen CT. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;(87):1080-1086.
- Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. In *Mayo Clinic Proceedings*. 2006;353-373.
- Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *The Journal of clinical investigation*. 2006; 116(8), 2062-2072.

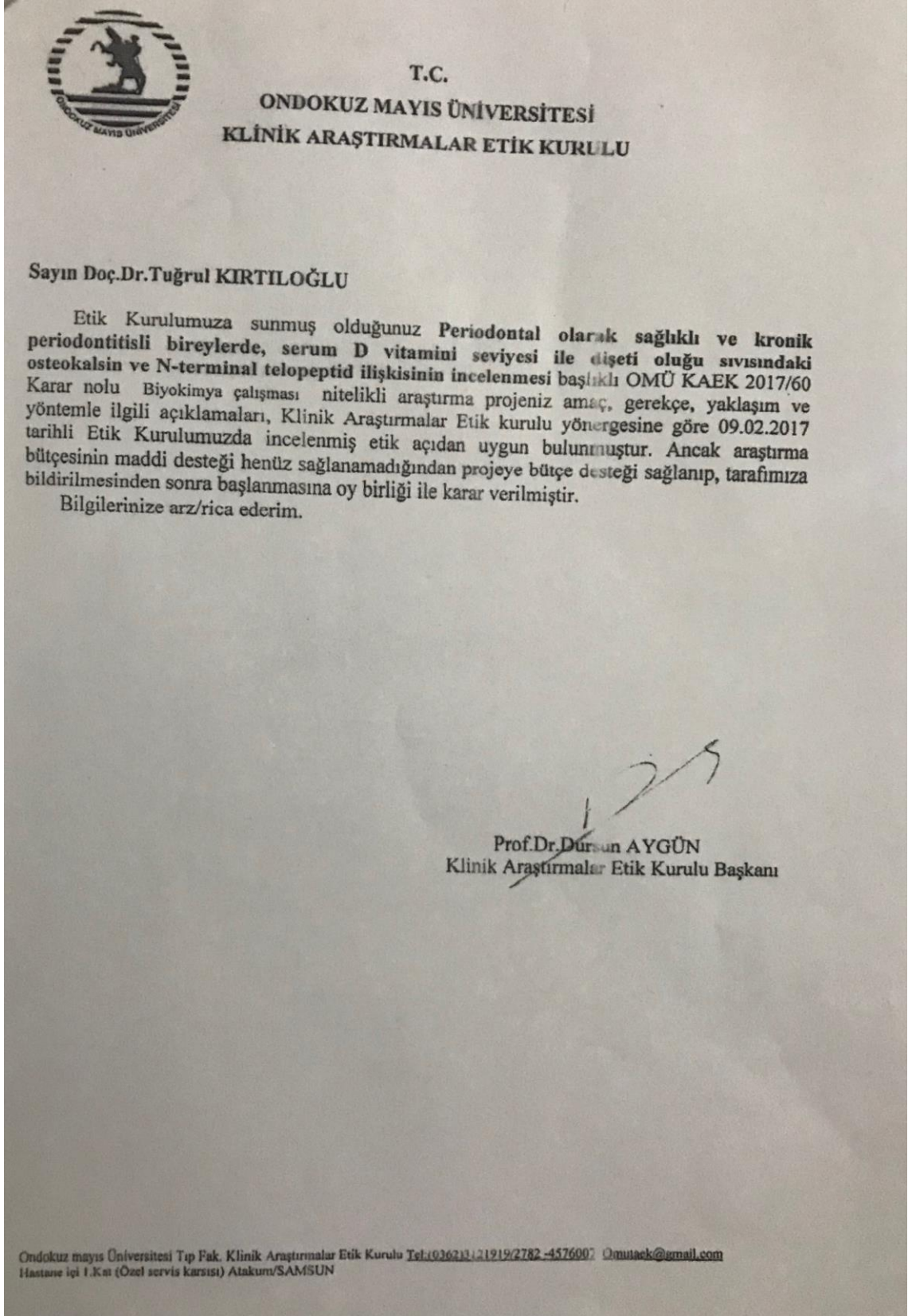
- Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *The American journal of clinical nutrition* 2004;(80):1678-1688.
- Holick MF. Vitamin D and bone health. *The Journal of nutrition* 1996; (126): 1159-1164.
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine* 2007;(357):266-281.
- Iacopino AM, Cutler CW. Pathophysiological relationships between periodontitis and systemic disease: recent concepts involving serum lipids. *Journal of Periodontology* 2000;(71):1375-1384.
- Kaplan FS. Osteoporozis, Pathophysiology and Prevention, *Clinical Symposia* 1997;39:1-32.
- Kargın F, Fidancı UR, Kemik Metabolizmasının İzlenmesinde Biyokimyasal Belirteçler ve Klinik Önemi, *Türk Veteriner Hekiliği Dergisi*, 2002;14(1): 52-55.
- Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. *Harrison's principles of internal medicine* (McGraw Hill Education) 2015: 86-97.
- Kavrut T. Periodontal Sağlıklı, Gingivitisli, Kronik periodontitisli ve Kronik periodontitisli osteoporozlu bireylerin Dişeti Oluğu Sıvısı Alkalen Fosfataz ve Osteokalsin Değerlerinin Karşılaştırılması. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Doktora Tezi, 2006; 41-54.
- Kent GN. Markers of Bone Turnover. *JIFFC* 1997; 9: 31-35.
- Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease', *Periodontology* 2000. 2001;(25): 8-20.
- Kornman KS. Refractory periodontitis: critical questions in clinical management. *Journal of clinical periodontology* 1996;(23): 293-298.
- Kruse K, Kracht U. Evaluation of serum osteocalcin as an index of altered bone metabolism', *European journal of pediatrics* 1986; (145):27-33.
- Kunimatsu K, Mataka S, Tanaka H, Mine N, Kiyoki M, Hosoda K, Kato Y, Kato I. A cross-sectional study on osteocalcin levels in gingival crevicular fluid from periodontal patients. *Journal of Periodontology* 1993;(64): 865-869.
- Lee AJ, Walsh TF, Hodges SJ, Rawlinson A. Gingival crevicular fluid osteocalcin in adult periodontitis. *Journal of clinical periodontology* 1999;(26):252-256.
- Lian JB, Stein GS. 'Osteoblast biology.' in, *Osteoporosis*. 2001; 21-71

- Listgarten MA. Pathogenesis of periodontitis. *Journal of clinical periodontology* 1986;(13):418-425.
- Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, Ochoa MS, Schauber J, Wu K, Meinken C. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 2006;(311): 1770-1773.
- Löe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta odontologica scandinavica* 1963;21(6):533-551.
- Malabanan A, Veronikis IE, Holick MF. Redefining vitamin D insufficiency. *The Lancet* 1998;(351): 805-806.
- Marshall WJ. *Clinical Chemistry*. Gower Medical Puslishes, New York 1988: 107-113.
- McCauley LK, Nohutcu RM. Mediators of periodontal osseous destruction and remodeling: principles and implications for diagnosis and therapy. *Journal of Periodontology* 2002;(3):1377-1391.
- Moss DV. Alkaline phosphatase isoenzymes, *Clinic Chemistry* 1982; 28: 2007-2016.
- Nakashima K, Roehrich N, Cimasoni G. Osteokalsin, prostoglandin E2 and alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid: their relations to periodontal status. *Journal of clinical periodontology* 1994;(21):327-333.
- Nishida M, Grossi SG, Dunford RG, Ho AW, Trevisan M, Genco RJ. Calcium and the risk for periodontal disease. *Journal of Periodontology* 2000;(71):1057-1066.
- Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Annals of periodontology* 1996;(1):821-878.
- Oringer R. Modulation of the host response in periodontal therapy. *Journal of Periodontology* 2002;(73):460-470.
- Öngen B, Kabaroğlu C, Parıldar Z. Vitamini'nin biyokimyasal ve laboratuvar değerlendirmesi. *Türk klinik biyokimya dergisi* 2008;(6): 23-31.
- Özgürtaş T, Kutluay T. Yeni kemik markırları ve klinik kullanımları. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 2001;(21): 523-527.
- Öztürk VÖ, Becerik S, Atmaca H, Emingil G. Farklı Periodontal Hastalıkta Dişeti Oluğu Sıvısı Kemik Yapım Ve Yıkım Biyomarkırlarının Karşılaştırılması. 2016;37(3): 148-154
- Page RC, Engel LD, Narayanan AS, Clagett JA. Chronic inflammatory gingival and periodontal disease. *Jama* 1978;(240):545-550.

- Parfitt A, Simon LS, Villanueva AR, Krane S. Procollagen type I carboxy-terminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone. Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. *Journal of Bone and Mineral Research* 1987;(2):427-439.
- Persson GR, Page RC. Effect of sampling time and repetition on gingival crevicular fluid and aspartate aminotransferase activity', *Journal of periodontal research* 1990;(25):236-242.
- Petersen PE. The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century—the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dentistry and oral epidemiology* 2003;(31):3-24.
- Pludowski P, Holick MF, Pilz S, Wagner CL, Hollis BW, Grant WB, Soni M. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality. *Autoimmunity reviews*, 2013;12(10), 976-989.
- Poser JW, Esch FS, Ling NC, Price AP. Isolation and sequence of the vitamin K-dependent protein from human bone. Undercarboxylation of the first glutamic acid residue. *Journal of Biological Chemistry* 1980;(255): 8685-8691.
- Price CP, Kirwan A, Vader C. Tartrate-Resistant Acid Phosphatase as a marker of Bone Resorption. *Clinical Chemistry* 1995;41: 641-643.
- Raisz GL, Kream BE. Regulation of bone formation. *N. Eng. J. Med.* 1983;309: 29-34.
- Raisz L, Smith JA, Trahiotis M, Fall P, Shoukri K, Digennaro J, Sacco-Gibson N. Short-term risedronate treatment in postmenopausal women: effects on biochemical markers of bone turnover. *Osteoporosis international* 2000;(11): 615-620.
- Silness J, Løe H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta odontologica scandinavica* 1964;22(1), 121-135.
- Swaminathan R. Biochemical markers of bone turnover. *Clinica chimica acta*, 2001;(313): 95-105.
- Szulc P, Delmas P. Biochemical markers of bone turnover in men. *Calcified tissue international* 2001;(69): 229.
- Uğurlu İ. Metabolik Sendromlu Hastalarda Serum Osteokalsin Düzeylerinin Metabolik Parametreler ve İnflamasyon ile İlişkisi. Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Tıpta uzmanlık tezi, 2010; 38-41.
- Uitto V. 'Gingival crevice fluid—an introduction', *Periodontology* 2000. 2003;31: 9-11.
- Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontology* 2000. 2003;77-104.

- Wacker M, Holick MF. Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermato-endocrinology* 2013b;(5):51-108.
- Wacker M, Holick MF. Vitamin D effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. *Nutrients* 2013a; (5):111-148.
- Wactawski-Wende J, Hausmann R, Hovey K, Trevisan M, Grossi S, Genco RJ. The association between osteoporosis and alveolar crestal height in postmenopausal women. *Journal of Periodontology* 2005;(76):2116-2124.
- Walters MR. Newly identified actions of the vitamin D endocrine system. *Endocrine reviews* 1992;(13):719-764.
- White JH. Vitamin D signaling, infectious diseases, and regulation of innate immunity. *Infection and immunity* 2008;(76):3837-3843.
- Wical KE, Swoope CC. Studies of residual ridge resorption. Part II. The relationship of dietary calcium and phosphorus to residual ridge resorption. *Journal of Prosthetic Dentistry* 1974;(32):13-22.
- Williams DM, Hughes FJ, Odell EW, Farthing PM. The normal periodontium. In: *Pathology of periodontal diseases*. Oxford university press. New York 2002; 17-30.
- Wilson A, Schmid M, Marx D, Reinhardt RA. Bone turnover markers in serum and periodontal microenvironments. *Journal of periodontal research* 2003;(38):355-361.
- Yamalı İP. Peri-implant ve dişeti oluk sınırlarında osteokalsin ve n-terminal crosslink telopeptit (NTX) seviyeleri ve klinik parametrelerle ilişkisinin incelenmesi. Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, Uzmanlık Tezi, 2015; 1-46.
- Zittermann A. Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence?. *British Journal of Nutrition* 2003;(89):552-572.

EKLER



HASTA BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ

*

ARAŞTIRMANIN ADI (ÇALIŞMANIN AÇIK ADI):

Periodontal olarak sağlıklı ve kronik periodontitisli bireylerde, serum D vitamini seviyesi ile dişeti oluğu sıvısındaki osteokalsin ve N-terminal telopeptid ilişkisinin incelenmesi

Gönüllünün Baş Harfleri << >>

Bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağına çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız ve eğer istiyorsanız özel veya aile doktorunuzla konuyu değerlendiriniz. Eğer bir başka çalışmada da yer alıyorsanız bu çalışmada yer alamazsınız.

BU ÇALIŞMAYA KATILMAK ZORUNDAMIYIM?

Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirsiniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. Katılmaya karar verirsiniz, çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Bu durum sizin aldığımız tedavinin standardını etkilemeyecektir. Eğer isterseniz, bu klinik çalışmaya katılımınızla ilgili olarak hekiminiz / aile doktorunuz bilgilendirilecektir. Ayrıca destekleyici firma çalışmayı sonlandırmaya karar verirse bu durumda da çalışmadan çıkartılacaksınız.

ÇALIŞMANIN KONUSU VE AMACI NEDİR? Açıklayınız

Konu:

D vitamini yağda eriyen vitaminler arasında bulunmaktadır. D vitamininin en önemli etkisi kemik sağlığı üzerinedir. D vitamini, periodontal hastalığın patogeneğinde önemli bir role sahip olabilir ve farklı periodontal hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde yardımcı tedavi modalitesi olarak kullanılabilir. Bu çalışmada serum D vitamini düzeyinin kemik yapım markırı olan osteokalsin ve yıkım markırı olan N terminal telopeptid arasındaki ilişkisi incelenecektir.

Amaç:

Kan D vitamini düzeyinin dişin etrafındaki kemik yapım ve yıkımı ile ilişkisini incelemek.

ÇALIŞMA İŞLEMLERİ:

Çalışmaya katılan bireyler OMÜ Diş Hekimliği Fakültesine başvuran hiçbir sistemik hastalığı olmayan Periodontal olarak sağlıklı ve kronik periodontitisli, serum D vitamini seviyesi bilinen erkek bireyler seçilecektir.

Çalışmaya katılan tüm hastalardan ilk gün hastalığın teşhisi için ağız içi rutin klinik ve radyografik ölçümler alınacaktır. Bu seans yaklaşık 15 dk sürecek hasta hiçbir şey hissetmeyecektir. Hastalar ertesi gün çağırılarak teşhis seansında belirlenmiş diş bölgelerinden dişeti oluğu sıvısı örnekleri toplanacaktır. Diş eti oluğu sıvısı toplanma işlemi yaklaşık 30 saniye sürer ve hastaya herhangi bir rahatsızlık hissettirmez. Yine bu seansta hastalara rutin diş eti tedavisi kapsamında olan diş üzerindeki tüm eklentilerin kaldırılması, diş taşlarının temizlenmesi ve oral hijyen eğitimi verilecektir. Hasta bir hafta sonra tekrar çağırılarak, oral hijyen alışkanlığı ve diş eti iyileşmesi kontrol edilecektir.

BENİM NE YAPMAM GEREKİYOR?

Çalışma doktorunuzun talimatlarına uymaya, randevu ve vizitelere katılmaya ve yukarıda anlatılan çalışmayla ilgili tüm işlemlere uymaya istekli olmalısınız. Kan örnekleri için açlık durumunda (aç karnına) olmanız gerekmektedir (su dışında başka hiçbir yiyecek ve içeceğin tüketilmemesi gerekmektedir). Çalışma doktorunuzu ziyarete belirlenen günlerde gelmelisiniz ve bir sonraki ziyaretiniz de, ziyaretten ayrılmadan önce planlanmalıdır. Yine çalışmadan önce veya çalışma sırasında aldığınız başka herhangi bir tıbbi tedaviyi de çalışma doktoruna söylemeniz önemlidir.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN NE GİBİ OLASI YAN ETKİLERİ, RİSKLERİ VE RAHATSIZLIKLARI VARDIR?

Araştırmamız hastalarımızda herhangi bir yan etki, risk ve konforsuz hissettirecek durum yaratmamaktır.

GEBELİK VE DOĞUM KONTROLÜ

Çalışmaya bayan hasta dahil edilmeyecektir.

ÇALIŞMAYA KATILMANIN OLASI YARARLARI NELERDİR? (Varsa açıklayınız)

GÖNÜLLÜ KATILIM

Bu araştırmaya katılma kararımı tamamen gönüllü olarak veriyorum. Bu çalışmaya katılmayı reddedebileceğim veya katıldıktan sonra istediğim zaman, bu tedavi kurumunda göreceğim bakım ve tedaviler etkilenmeksizin ve hiçbir sorumluluk almadan ayrılabilirim bilincindeyim. Çalışmadan her hangi bir zamanda ayrılırsam, ayrılma nedenlerimi, ayrılışımın sonuçlarını ve izleyen dönemde alacağım tedavileri doktorumla tartışacağım.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN MALİYETİ NEDİR?

Çalışma doktoru ziyaretleri ve çalışmayla ilgili olan tüm laboratuvar testleri çalışma destekleyici tarafından karşılanacak ve size veya bağlı bulunduğunuz özel sigorta veya resmi sosyal güvenlik kurumuna ödetilmeyecektir. Ayrıca çalışmaya bağlı makul miktardaki yol gideriniz makbuzları gösterildiği takdirde karşılanacaktır.

Herhangi bir yan etki veya fiziksel zarar gelişirse hemen çalışma doktorunuzu gereken tıbbi tedavinin uygulanabilmesi için bilgilendiriniz.

KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?

Bu formu imzalayarak doktorunuzun ve onun kadrosunun çalışma için sizin kişisel bilgilerinizi (“Çalışma Verileri”) toplamalarına ve kullanmalarına onay vermiş olacaksınız. Bu durum doğum tarihiniz, cinsiyetiniz, etnik kökeniniz ayrıca Çalışma verilerinizin kullanımı ile ilgili verdiğiniz onayın herhangi bir belirlenmiş birim tarihi yoktur, ancak doktorunuzu haberdar ederek bu onayınızdan herhangi bir zamanda vazgeçebilirsiniz.

Çalışma destekleyicisi firma ile paylaşılan çalışma verileri size özel bir numara olan bir kod (“Kod”) numarası kullanımıyla korunacaktır. Sizin çalışma verilerinize ulaşmak için gerekli olan kod anahtarı çalışma doktorunuzun denetimindedir. Çalışma destekleyicisi firma düzenleyici otorite veya diğer denetim kurumları tarafından atanmış kişiler doktorunuz tarafından tutulan çalışma verilerinizi inceleyebilirler.

Doktorunuz çalışma verilerinizi çalışma için kullanacaktır. Çalışma destekleyicisi firma; çalışmanın yürütülmesi, teşhis ve tıbbi yardım gereçlerinin geliştirilmesi için çalışma verilerinizi kullanabilir. Doktorunuzun çalıştığı kurum ve çalışma destekleyicisi firmanın her ikisi de yürürlükte olan veri koruma kanunları ile uyumlu olarak çalışma verilerinizin yönetiminden sorumludurlar.

Çalışma destekleyicisi firma çalışma verilerinizi, sadece yukarıda belirtilen amaçlarda kullanacak olan kendi grubundaki diğer şirketler, hizmet alınan kurumlar, anlaşmalı firmalar ve diğer araştırma kuruluşları ile paylaşabilir. Çalışmanın sonuçları tıbbi yayınlarda yayınlanabilir, ancak sizin kimlik bilgileriniz bu yayınlarda açıklanmayacaktır.

Doktorunuz ya da çalışma destekleyicisi firmadan, toplanan çalışma verileriniz hakkında bilgi isteme hakkında sahipsiniz. Aynı zamanda bu verilerdeki herhangi bir hatanın düzeltilmesini isteme hakkında da sahipsiniz. Eğer bu konuda bir isteğiniz olursa lütfen gerekirse sizin çalışma destekleyicisi firma ile temasa geçmenize yardımcı olabilecek doktorunuzla görüşünüz.

Eğer onayınızda vazgeçerseniz, doktorunuz çalışma verilerinizi artık kullanamayacak ya da diğer kişilerle paylaşamayacaktır. Çalışma destekleyicisi firma onayınızdan vazgeçmeden önceki çalışma verilerinizi kullanmaya devam edebilir.

Bu formu imzalayarak, çalışma verilerinizin bu formda tanımlandığı şekilde kullanımına onay vermekteyim.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE 24 SAAT ULAŞILABİLECEK KİŞİLER:

Ad, Soyadı ve telefon numaraları

Dt. Burçin ÇEVİK 0536 6118357 - 0 (362) 3121919(3785-3366)

ÇALIŞMADAN AYRILMAMI GEREKTİRECEK DURUMLAR: Varsa açıklayınız

YENİ BİLGİLER ÇALIŞMADAKİ ROLÜMÜ NASIL ETKİLEYEBİLİR

Çalışma sürerken ortaya çıkmış olan bütün yeni bilgiler bana derhal iletilecektir.

Çalışmaya Katılma Onayı

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum. Doktorum saklamam için bu belgenin bir kopyasını çalışma sırasında dikkat edeceğim noktaları da içerecek şekilde bana teslim etmiştir.

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Açıklamaları Yapan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

*** Açıklamalar hastanın anlayabileceği açıklıkta ve teknik terimlerden uzak bir şekilde belirtilmelidir.**

ÖZGEÇMİŞ

Ad- Soyad: Burçin ÇEVİK

Doğum yeri: Samsun/Türkiye

Medeni hal: Bekar

e-posta: drburcincevik@gmail.com

Yabancı dil: İngilizce

Eğitim:

1996-2000 Samsun Anadolu Lisesi

2000-2004 Samsun Fen Lisesi

2005-2010 Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

2013- Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji

Anabilim Dalı

Çalıştığı kurumlar / Yıl:

2011-2014 Samsun Medicana International Hospital

2014-2015 Sinop Ağız Diş Sağlığı Hastanesi

2015-2016 Gerze Devlet Hastanesi

2016- Bafra Ağız Diş Sağlığı Hastanesi