

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**GINGİVİTİSLİ VE PERİODONTİTİSLİ BİREYLERDE YKL-40
AKUT FAZ PROTEİNİ VE İNTERLÖKİN-6 SEVİYELERİNİN
BİYOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. ZeynepPınar KELEŞ

**Samsun
Şubat-2014**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**GINGİVİTİSLİ VE PERİODONTİTİSLİ BİREYLERDE YKL-40
AKUT FAZ PROTEİNİ VE İNTERLÖKİN-6 SEVİYELERİNİN
BİYOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Zeynep Pınar KELEŞ

**Danışman
Doç. Dr. Gonca ÇAYIR KELEŞ**

**Samsun
Şubat-2014**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Zeynep Pınar KELEŞ tarafından Doç. Dr. Gonca ÇAYIR KELEŞ Danışmanlığında hazırlanan “Gingivitisli ve Periodontitisli Bireylerde YKL-40 Akut Faz Proteini ve İnterlökin-6 Seviyelerinin Biyokimyasal Olarak İncelenmesi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 20/02/2014 tarihinde yapılan sınav ile Periodontoloji Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Gülnur EMİNGİL

Ege Üniversitesi

Üye : Prof.Dr. Cem A. GÜRGAN

Erciyes Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Gonca ÇAYIR KELEŞ(Danışman)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Burcu ÖZKAN ÇETİNKAYA

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. Bahattin AVCI Ondokuz Mayıs Üniversitesi

ONAY:

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

.... / /.....

Prof. Dr. Süleyman KAPLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Lisans ve doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, tezimin her aşamasında emeğini ve yardımını esirgemeyen, her konuda yanımda olduğunu daima hissettiren, hekimlik sanatında bugüme ulaştıran ve daha ilerisine ışık tutan, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyduğum, ona olan sevgimi anlatmaya kelimelerin yetmediği çok kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Gonca KELEŞ'e,

Çalışmamın her aşamasında büyük bir içtenlikle destek ve yardımlarını esirgemeyen, değerli bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum, çok sevdiğim canım hocam Sayın Prof. Dr. Gülnur EMİNGİL'e,

Tezimin laboratuvar aşamalarını gerçekleştiren, değerli bilgi ve deneyimlerini paylaşan, gereken her türlü imkanı sağlayarak yoğun çalışmalarını arasında bana zaman ayıran değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Bahattin AVCI'ya,

Doktora hayatım süresince yüksek anlayışı ve sabrı ile çalışmamın gerçekleşmesindeki destek ve katkılarından dolayı değerli Anabilim Dalı Başkanım Sayın hocam Prof. Dr. H. Gökhan AÇIKGÖZ'e,

Eğitimimsüresince hiç çekinmeden her konuyu danışabildiğim, tüm çalışmalarımında bilgi ve deneyimleriyle daima yol gösteren, çok sevdiğim kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Burcu ÖZKAN ÇETİNKAYA'ya,

Tezimin istatistiksel değerlendirmelerinde göstermiş olduğu yardımlardan dolayı Sayın Prof. Dr. Yüksel BEK'e ve Sayın Doç. Dr. Sevgi CANBAZ'a,

Beni gönülden destekleyen değerli Periodontoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve çalışanlarına,

Zorlu asistanlık yıllarımı kolaylaştıran kıymetli asistan arkadaşlarıma ve Dr. Dt. Evren SARIYILMAZ'a,

Çalışmamın gerçekleştirilebilmesi için destek sağlayan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na,

Bütün hayatım boyunca yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim canım aileme,

Sevgisini ve desteğini hep hissettiğim, hayatımın hersaniyesinde olduğu gibi çalışmalarım sırasında da sabırla yanımda olan sevgili nişanlıma,

SONSUZ TEŞEKKÜRLER

ÖZET

ĞİNGİVİTİSLİ VE PERİODONTİTİSLİ BİREYLERDE YKL-40 AKUT FAZ PROTEİNİ VE İNTERLÖKİN-6 SEVİYELERİNİN BİYOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ

Amaç: Yeni bir akut faz proteini olan YKL-40'ın romatoid artrit, tip 2 diabet ve koroner arter hastalıkları gibi inflamatuvar hastalıklarda arttığı gösterilmiştir. Ancak, YKL-40 ve periodontal hastalık arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. İnterlökin-6 (IL-6); akut faz proteini sentezinin majör düzenleyicisi olup, periodontal hastalıklarda en fazla çalışılmış inflamatuvar belirleyicilerden biridir. Bu çalışmada, sağlıklı bireyler ile periodontal hastalığı olan bireylerde dişeti oluğu sıvısı (DOS) ve serumda YKL-40 ve IL-6 seviyelerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Materyal ve Metot:Sistemik hastalığı olmayan periodontal olarak sağlıklı (n:40), gingivitisli (n:40) ve şiddetli kronik periodontitisli (n:40) bireyler çalışmaya dahil edildi. Klinik ölçümler kaydedildi ve her bireyden DOS ve kan örnekleri toplandı. DOS ve serum YKL-40 ve IL-6 seviyeleri ELISA ile analiz edildi. İstatistiksel değerlendirme parametrik ve nonparametrik testler kullanılarak yapıldı.

Bulgular:DOS YKL-40 ve IL-6 total miktarı ile serum YKL-40 ve IL-6 seviyeleri gingivitis ve kronik periodontitis hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti ($P<0,001$). DOS ve serum YKL-40 ve serum IL-6 seviyelerinde kronik periodontitis hastalarında gingivitis hastaları ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı artış saptandı($P<0,001$).

Sonuç:DOS YKL-40, serum YKL-40 ve IL-6 seviyeleri gingivitisten periodontitise artış gösterdi.Bu çalışmanın sınırları dahilinde,YKL-40 molekülü periodontal hastalıkların potansiyel yeni bir inflamasyon belirleyicisi olabilir.

Anahtar kelimeler: Akut faz proteinleri; dişeti oluğu sıvısı; interlökin-6; periodontal hastalık; serum; YKL-40

Zeynep Pınar KELEŞ, Doktora Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi-Samsun-Şubat-2014

ABSTRACT

ANALYSIS OF YKL-40 ACUTE-PHASE PROTEIN AND INTERLEUKIN-6 LEVELS IN PATIENTS WITH GINGIVITIS AND PERIODONTITIS

Aim: YKL-40, a new acute phase protein, is shown to be elevated in inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis, type 2 diabetes mellitus and coronary artery diseases. However, there is no data indicating relationship between YKL-40 and periodontal disease. Interleukin-6 (IL-6) is the major regulator of acute phase protein synthesis and one of the most studied inflammatory markers in periodontal disease. The purpose of the present study was to evaluate YKL-40 and IL-6 levels in gingival crevicular fluid (GCF) and serum of patients with periodontal disease and healthy subjects.

Material and Method: Periodontal healthy subjects (n:40) and patients with gingivitis (n:40) and severe chronic periodontitis (n:40) without any systemic disease were included to the study. Clinical measurements were recorded; GCF and blood samples were obtained from each subject. GCF and serum YKL-40 and IL-6 levels were analyzed by using ELISA. Statistical analysis was performed by parametric and non-parametric tests.

Results: Total amounts of YKL-40 and IL-6 in GCF, and serum YKL-40 and IL-6 levels were significantly higher in gingivitis and chronic periodontitis patients compared to healthy controls ($P<0.001$). YKL-40 levels in GCF and serum, and serum IL-6 levels were significantly higher in chronic periodontitis patients compared to gingivitis patients ($P<0.001$).

Conclusion: YKL-40 levels in GCF, and serum YKL-40 and IL-6 levels increased from gingivitis to periodontitis. Within the limits of the present study, YKL-40 molecule might be a potential novel inflammatory marker of periodontal disease.

Key words: Acute phase proteins; gingival crevicular fluid; interleukin-6; periodontal disease; serum; YKL-40

Zeynep Pınar KELEŞ, Ph.D. Thesis

Ondokuz Mayıs University-Samsun-February-2014

SİMGELER VE KISALTMALAR

CRP: C-Reaktif Protein

CHI3L1: Kitinaz 3 Benzeri Protein 1

DOS: Dişeti Oluğu Sıvısı

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Gİ: Gingival İndeks

HC gp39: İnsan Kartilaj Glikoprotein 39

IF: İnterferon

IL:İnterlökin

KAS: Klinik Ataşman Seviyesi

LPS: Lipopolisakkarit

MMP: Matriks Metalloproteinaz

ng: Nanogram

pg: Pikogram

PGE₂: Prostaglandin E₂

PI: Plak İndeksi

PMNL: Polimorfonükleer Lökosit

SAA: Serum Amiloid A

SCD: Sondalanabilir Cep Derinliği

TNF: Tümör Nekrozis Faktör

µl: Mikrolitre

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.Gingivitis.....	4
2.2.Kronik Periodontitis	4
2.3. Periodontal Hastalıkların Etyopatogenezi	5
2.4. Periodontal hastalıklarda Akut Faz Cevabı	9
2.5. Akut Faz Proteinleri	13
2.6. YKL-40	16
2.7. Akut Faz Proteinlerinin Salgılanmasını Düzenleyen Sitokinler	21
2.8. DOS.....	24
2.9. Serum	25
3. MATERYAL VE METOT	27
3.1.Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	27
3.2.Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri.....	27
3.3.Çalışma Grupları	27
3.3.1.Klinik ve Radyografik Değerlendirme.....	28
3.3.2.Teşhis	28
3.4.DOS Örneklerinin Toplanması.....	30
3.5. Kan Örneklerinin Toplanması ve Serum Elde Edilmesi.....	32
3.6. Biyokimyasal Analiz	33

3.6.1. Çalışma Çözeltilerinin Hazırlanması	33
3.6.2. YKL-40 ve IL-6 Çalışma Prosedürü	34
3.7. İstatistiksel Analiz	35
4. BULGULAR	37
4.1. Klinik Bulgular.....	37
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	39
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	70

1. GİRİŞ

Periodontal hastalık, diş kaybı ile sonuçlanabilen vaskularize diş destek dokularının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır (Booth ve ark., 1998; Mouthsopoulos ve ark., 2006; Vidal ve ark., 2009). Periodontal hastalıkların ana nedeni periodontal mikroorganizmalar olmasına rağmen, hastalığın şiddeti ve ilerleyişi konak immün cevabından etkilenmektedir (Honda ve ark., 2006; Keleş ve ark., 2010). Periodontal patojenlere karşı, konak immün cevabında meydana gelen inflamatuvar değişiklikler, yıkıcı periodontal hastalıkta önemli faktörlerdir (Renvert ve ark., 2009). Periodontal patojenlerce üretilen endotoksinlere karşı oluşan konak cevabında; akut faz proteinleri, sitokinler ve prostaglandinler gibi doku yıkımını hedefleyen inflamatuvar medyatörler salgılanmaktadır (Loos ve ark., 2000; Slade ve ark., 2000; De Nardin ve ark., 2001). Bu inflamatuvar reaksiyonların bir sonucu olarak, dişeti oluşu sıvısında (DOS) (Tüter ve ark., 2007; Fitzsimmons ve ark., 2010) ve serumda (Loos ve ark., 2000; Barbara ve ark., 2001) çeşitli akut faz proteinlerinin seviyesi yükselmektedir.

YKL-40, bir akut faz proteindir ve inflamatuvar bir stimulusu takiben plazma konsantrasyonu, geri dönüşümlü olarak %25'den daha fazla artmaktadır (Johansen ve ark., 2006; Roslind ve ark., 2009; Mygind ve ark., 2011). YKL-40 proteini, kitinaz 3 benzeri protein ya da insan kartilaj glikoproteini 39 olarak da bilinmektedir (Huang ve Wu, 2009). YKL-40; makrofajlar (Roslind ve ark., 2009), aktive olmuş nötrofiller (Roslind ve ark., 2009) gibi çeşitli immün sistem hücreleri tarafından salgılanmakta olup, koroner arter hastalıkları gibi inflamatuvar hastalıklarda potansiyel bir inflamasyon belirleyicisidir (Johansen ve ark., 2008; Wang ve ark., 2008; Kastrup ve ark., 2009; Rathcke ve ark., 2010; Zheng ve ark., 2010; Mathiasen ve ark., 2010; Michelsen ve ark., 2010; Mygind ve ark., 2011). Ayrıca vasküler düz kas hücreleri (Johansen ve ark., 2006), kanser hücreleri (Johansen ve ark., 2006), artritlik kondrositler (Boot ve ark., 1999) tarafından da salgılanır ve hastalığa spesifik inflamatuvar bir molekül değildir. YKL-40, endotelial hücreler için kemoatraktan olarak rol oynamaktadır (Boot ve ark., 1999); bu hücrelerin göçünü uyarmaktadır ve anjiogeneziste rolü olduğu düşünülen vasküler düz kas hücrelerinin adezyonunu ve migrasyonunu tetiklemektedir (Hedegaard ve ark., 2010; Mygind ve ark., 2011).

YKL-40'in serum ya da plazma konsantrasyonunun; romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalığı, tip 2 diabetes mellitus, koroner arter hastalığı, akut miyokardiyal infarktüs gibi inflamasyonla karakterize hastalığa sahip bireylerde, sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında artmış olduğu tespit edilmiştir (Roslind ve ark., 2009). Periodontal hastalık da kronik inflamatuvar bir hastalık olduğundan; YKL-40 akut faz proteininin seviyesinin, bu hastalığın mevcudiyetinden de etkilenebileceği düşünülmektedir. Lokal inflamatuvar bir hastalık olan periodontal hastalığın sistemik olarak inflamasyon belirleyicilerini de etkileyerek; sistemik hastalıklar için risk oluşturabileceği, serum ya da plazmada yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak ulaşabildiğimiz ölçüde, YKL-40 ile periodontal hastalık arasındaki olası ilişkiyi rapor eden herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Akut faz cevabı sitokinler tarafından düzenlenmektedir. İnterlökin (IL)-6, akut faz proteinlerinin salgılanmasında ve akut faz reaksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynayan önemli sitokinlerden biridir. İnflamatuvar hastalıklarda yapılan çalışmalarda YKL-40 sentezinde IL-6 sitokininin rolü olduğu düşünülmüştür (Knudsen ve ark., 2006; Nielsen ve ark., 2011). Aynı zamanda, IL-6 periodontal hastalıkta en fazla çalışılmış inflamatuvar medyatörlerden biri olup gingivitis ve periodontitisli hastaların DOS'unda ve inflame dişeti dokularında yükseldiği belirlenen bir sitokindir (Mogi ve ark., 1999; Noh ve ark., 2013).Yapılan çalışmalarda, periodontitis hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla IL-6 seviyesinin hem lokal (DOS ve tükürükte), hem de sistemik (serumda) olarak yükseldiği belirtilmiştir (Geivelis ve ark., 1993; Costa ve ark., 2010; Shimada ve ark., 2010).Çalışmamızın amacı; farklı düzeylerde periodontal hastalığı bulunan bireyler ile periodontal olarak sağlıklı bireyler arasında bir akut faz proteini ve inflamasyon molekülü olan YKL-40'in serum ve DOS seviyelerinin karşılaştırılarak periodontal hastalık üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi ve periodontal hastalıkla ilişkili olduğu ve akut faz proteini sentezinde düzenleyici etkisi olduğu bilinen IL-6 proinflamatuvar sitokininde çalışmaya dahil edilerek araştırılmasıydı.

2. GENEL BİLGİLER

Periodonsiyum; epitel ve bağ dokusundan oluşan diş eti, periodontalligament, kök yüzeyini örten sement ve alveol kemiğini kapsayan dokular bütünüdür. Bu dokularda meydana gelen yıkım sonucu periodontal hastalık oluşur. (Lindhe ve ark., 2008). Periodontal hastalık; diş kaybı ile sonuçlanabilen, vaskülarize diş destek dokularının kronik inflamasyon ve yıkımıyla karakterize, multifaktöryel infeksiyöz bir hastalıktır (Booth ve ark., 1998; Moutsopoulos ve Madianos, 2006). Periodontal hastalığın primer etyolojik faktörü, mikrobiyal dental plak ve ağız florasında bulunan spesifik patojen mikroorganizmalardır. Yapılan araştırmalarda, ağız florasında 700'den fazla farklı tür mikroorganizmanın kolonize olabildiği gösterilmiştir (Aas ve ark., 2005; Berezow ve Darveau, 2011). Patojen mikroorganizmalar periodontal hastalığın oluşması için gereklidir, ancak tek başına yeterli değildir. Konağın bu patojenlere vereceği cevap periodontal hastalığın oluşmasında ve ilerlemesinde önemlidir. Periodontal hastalığın mikrobiyal dental plak ve konak cevabı arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıktığı; bunun yanı sıra sistemik hastalıklar, genetik, sigara, stres gibi çeşitli risk faktörleri ve belirleyicilerinden de etkilendiği gösterilmiştir (Sahingur ve Cohen, 2004).

İnsanlarda bulunan en yaygın periodontal hastalıklar, gingivitis ve periodontitistir (Kirkwood ve ark., 2007). Gingivitis, mikrobiyal dental plak birikimini takiben birkaç gün içinde gelişen dişeti inflamasyonudur. Dental plağın uzaklaştırılmasıyla geri dönüşümlü olan gingivitis, dişetinde gelişen infeksiyonun ilerlemesi sonucundabağ dokusu ve alveol kemiği kaybı ile karakterize olan periodontitise dönüşür (Løe ve ark., 1965; Kinane, 2001). Her periodontitisin öncesinde gingivitisin varlığı zorunlu olmakla beraber, her gingivitis vakası uzun yıllar tedavi edilmemiş olsa bile periodontitisile sonuçlanmaz.

Periodontal hastalıklar günümüze kadar çeşitli şekillerde sınıflandırılmış olmakla birlikte, bugün kabul edilen son sınıflama Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin 1999 yılında Uluslararası Çalıştay'ında düzenlediği sınıflamadır (Armitage, 1999).

2.1. Gingivitis

Plağa bağlı gingivitis, dişeti kenarında mikrobiyal dental plak birikimiyle meydana gelen ve geri dönüşümlü olan dişeti inflamasyondur (Löe ve ark.,1965). Damarlardaki vazodilatasyon sonucu dişetin soluk pembe rengi kırmızıya döner. İnflamasyon sonucu gelişen ödeme bağlı olarak dişeti bıçak sırtı formunu kaybederek yuvarlak bir form alır. Keratinizasyonun azalması ve bağ dokusunda kollajen kaybına bağlı olarak dişeti kıvamı sıkılığını kaybederek yumuşak bir hal alır. Ayrıca sağlıklı dişetin bir göstergesi olan mat ve pürüklü dişeti yüzeyi, yerini parlak ve düzgün bir yüzeye bırakır. Gingivitis vakalarında dişetin periodontal sonda ile muayenesinde sondalamada kanama mevcuttur. Hatta gingivitisin şiddetli seyrettiği vakalarda spontan kanamalar da görülebilir. Dişeti oluğu derinliğinin 3mm'ye kadar artışı normal kabul edilir. Ödeme bağlı dişeti büyüyebilir ve dişeti kenarı kronale kayabilir. Ancak birleşim epiteli normal seviyesindedir (Fiorellini ve ark., 2006). Dişetinde görülen bu klinik özelliklerin yanı sıra, DOS hacminde ve akış hızında artış gözlenir. Radyografik değerlendirmede ise alveol kemiğinde yıkım yoktur (Mariotti, 1999). Gingivitis periodontitisten ayıran en önemli özellik klinik ataşman kaybı ve alveol kemiği yıkımının olmamasıdır. Bu klinik belirtiler ve semptomların şiddeti, bireyler arasında ve aynı bireyde çeşitli bölgeler arasında değişiklik gösterebilir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, gingivitisin çocuklardan yetişkinlere kadar her yaş grubunda görülebileceği gösterilmiştir (Albandar ve ark., 1996; Albandar ve Tinoco, 2002).

2.2. Kronik Periodontitis

Kronik periodontitis, periodontisin en yaygın görülen formudur (Flemmig, 1999). Gingivitisin ilerlemesi sonucu periodontal ligament fibrillerinin yıkımına bağlı ataşman kaybı ve alveol kemiği kaybı ile karakterize inflamatuvar bir hastalıktır. Genellikle yavaş ilerler; ancak diabet, sigara, stres gibi sistemik ve çevresel faktörlerin plağa karşı oluşan konak cevabını değiştirmesiyle hastalık hızlı bir yıkım gösterebilir. Çoğunlukla yetişkinlerde görülmekle birlikte çocuklarda ve genç bireylerde de gözlenebilir.

Klinik olarak dişeti inflamasyonuna (eritem, ödem, sondalamada/spontan kanama) ilaveten; periodontal cep oluşumu, klinik ataşman kaybı ve alveol kemiği kaybı ile karakterizedir. Alveol kemiğindeki yıkım radyografik olarak da

gözlenebilmektedir. Horizontal ve vertikal kemik yıkımları görülmektedir. Hastalığın şiddetine bağlı olarak dişlerde mobilite ve migrasyon da klinik bulgular arasındadır (Greenstein, 2000; Newman ve ark., 2007). Kronik periodontitis hastalarında mikrobiyal dental plak miktarı ile periodontal dokulardaki yıkım orantılıdır. Kronik periodontitise bağlı doku yıkımı bir dişin bir bölgesinde görülürken, diğer bölgesinde görülmeyebilir. Belli dişlere lokalize olmayıp ağzın her bölgesinde gözlenebilmektedir (Flemmig, 1999).

Kronik periodontitis, etkilediği bölgenin büyüklüğüne göre lokalize ve generalize olmak üzere iki grupta tanımlanmaktadır. Ataşman kaybı ve kemik yıkımı gözlenen alan %30 ve %30'dan daha az ise lokalize kronik periodontitis; %30'dan daha fazla ise generalize kronik periodontitistir. Bunun dışında; meydana gelen klinik ataşman kaybı miktarına göre hastalığın şiddeti hafif, orta ve şiddetli olmak üzere derecelendirilmiştir. Klinik ataşman kaybı, 1-2 mm'den fazla değil ise hafif, 3-4 mm ise orta, 5 mm veya daha fazla ise şiddetli olarak isimlendirilmektedir (The American Academy of Periodontology, 1999).

Plağa bağlı gingivitis geri dönüşümlü, kronik periodontitis ise diş kaybına sebep olabilen geri dönüşümsüz bir hastalıktır.

Kronik periodontitis ve plağa bağlı gingivitis gibi periodonsiyumun iltihabi hastalıklarında gözlenen bir diğer önemli değişim ise biyolojik sıvılarla ilişkilidir. Özellikle oral biyolojik sıvılar olarak bilinen DOS ve tükürüğün miktarı veya içeriğinde önemli değişiklikler meydana geldiği vurgulanmıştır (Lamster, 1997; Özmeriç, 2004).

2.3. Periodontal Hastalıkların Etyopatogenezi

Periodontal hastalıkların patogenezi hastalığın oluşmasına öncülük eden ve ilerlemesinde rolü olan faktörleri içine alan bir süreçtir. Periodontal hastalıklar her ne kadar mikroorganizmalara bağlı gelişen hastalıklar olsa da mikrobiyal dental plağa karşı oluşan konak cevabının hastalığın meydana gelmesinde önemli olduğu bilinmektedir. Mikrobiyal dental plak, aerobik ve anaerobik bakteri içeren organize, kompleks bir ekosistemdir (Socransky ve Haffajee, 2002). Periodontal sağlık durumunda baskın olan gram pozitif aerobik flora, periodontal hastalık durumunda gram negatif anaerobik

bakterilerin artması yönünde değişir. Bu mikroorganizmaların ve ürünlerinin konak dokuda meydana getirdiği yıkım direkt ve indirekt olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Direkt mekanizmaya bağlı doku yıkımı mikroorganizmaların kendisi veya bakteriyel enzimler, toksinler gibi virülans faktörleri tarafından oluşmakta; indirekt mekanizmaya bağlı dokuyıkımı ise, mikroorganizma ve enzimlerine karşı gelişen konak cevabına bağlı meydana gelmektedir (The American Academy of Periodontology, 1999). Konak cevabı mikroorganizmalara karşı gelişen bir tepkidir ve akut iltihabi hücreler (nötrofil) ile kronik iltihabi hücrelerin (monosit/makrofaj ve lenfosit) organize olmuş aktiviteleri olarak değerlendirilebilir. İndirekt (konağa bağlı) doku yıkımı, lokal doku yıkımına yol açan nötrofiller gibi konak inflamatuvar hücrelerin veya humoral faktörlerin indüksiyonu, stimülasyonu veya aktivasyonunun sonucudur. Bu yıkımı çoğunlukla, mikrobiyal dental plaktaki periodontopatojenlerin konakta neden olduğu inflamatuvar ve immün cevaplar meydana getirmektedir.

İnflamasyona karşı oluşan immün cevaplar doğal ve kazanılmış olmak üzere iki şekildedir. Doğal (non-spesifik) immün cevap, bakterilere ve yabancı cisimlere karşı dokunun verdiği ilk immün yanıt, yani inflamasyon durumunda oluşan ilk savunma hattıdır. Kazanılmış (spesifik) immün cevap ise lenfoid hücrelerin antijeni tanınması ve bu antijene özel cevabın oluşmasıdır. Doğal immün cevap hızlı oluşur, ancak patojenlere spesifik değildir. Bu nedenle konak dokuya zarar verebilir. Kazanılmış immün cevap ise etken patojenlere spesifik olması nedeniyle daha etkilidir. Akut iltihabi hücreler olan nötrofiller doğal immün cevabın en önemli hücresidir. Fagositoz yoluyla antimikrobiyal aktivitelerini yerine getirirler, doku yıkıcı enzimleri ortama salarak da lokal doku değişikliklerine neden olurlar. Kronik iltihabi hücreler (monosit/makrofaj ve lenfosit) hem periodontal inflamasyona bağlı hem de periodontal iyileşmeye bağlı doku değişikliklerini düzenlerler. Bunun yanında antijenlere karşı spesifik antikorlar üreterek nötrofillerin periodontal inflamasyonu kontrol altında tutmasına yardımcı olurlar (Dennison and Van Dyke, 1997; Kirkwood ve ark., 2007). Aynı zamanda antijen sunan hücre özelliğine sahip olan makrofajlar, yabancı antijenleri fagosite ederek bu antijenleri tekrar işlerler ve lenfositlere sunarlar. Bu şekilde T hücre aktivasyonunu sağlar ve hücrel immünitede rol alırlar (Emingil, 2010).

İnflamatuar cevap dişetinde damarsal ve hücresele değişiklikleri kapsar. Dişeti kenarı ya da gingival sulkusta biriken plak içerisindeki mikroorganizmalar tarafından salgılanan ekstrasellüler enzimler, lipolisakkaritler (LPS) ve prostaglandinler akut inflamasyonun damarsal olaylarını başlatır. Açığa çıkan bu maddeler, birleşim epiteli ve bağ dokusundaki hücrelerden çeşitli inflamatuvar medyatörlerin salınımını uyararak damarsal değişikliklere neden olurlar (Nisengard ve ark., 2007; Emingil, 2010). Akut inflamatuvar cevap damar permeabilitesinin değişimiyle başlar. İnflamatuar cevabın ilk dakikalarında kimyasal medyatörlerin salınımıyla arteriollerde geçici bir vazokonstriksiyon oluşur. Vazokonstriksiyonunun gerilemesiyle arteriollerde ve kapillerde vazodilatasyon meydana gelir. Bu olaylar esnasında kan akımı artarak ısı artışı meydana gelir ve damar dışına sıvı akışı gerçekleşir. Serum, dişetinden bağ dokusuna ve daha sonra da dişeti oluşu içerisine doğru hareket eder. Bölgedeki hücrelerin uyarılması sonucunda da ortama salınan prostaglandinler ve sitokinler damarlarda genişlemeye sebep olarak damarlardaki sıvının ve plazma proteinlerinin dışarı sızmasına neden olurlar. Konak hücreleri tarafından üretilen bu inflamatuvar medyatörlerin damarsal geçirgenliği artırmasıyla bağ dokusunda eksüdatif sıvı artışı ve akut faz proteinlerinin birikimi olur (Slade, 2000; Emingil, 2010). Bunun sonucunda zarar gören dokuları ve ortamdaki yabancı antijenleri elimine etmek için akut inflamatuvar cevap sırasında birleşim epiteli ve dişeti oluşunda özellikle polimorfonükleer lökosit (PMNL) olmak üzere lökosit birikimi olur. PMNL birikimi ve aktivitesi pek çok enzimin salınımına yol açmakta ve sonucunda prostaglandinler (PGE₂ gibi) ve matriks metalloproteinazlar (kollajenazlar gibi) üretilmektedir. PGE₂, alveol kemiği rezorpsiyonunu indüklemekte, matriks metalloproteinazlar (MMP) ise bağ dokusu yıkımına yol açmaktadır (Greenstein, 2000) Hasarlı dokuların ve patojenlerin eliminasyonu tam olarak gerçekleşmediğinde inflamatuvar cevap devam eder, daha fazla periodontal yıkım oluşur ve olay kronik hal alır. Kronik inflamatuvar cevapta; makrofaj, lenfosit ve plazma hücreleri gibi mononükleer hücrelerin infiltrasyonu, fibroblast proliferasyonu ve bağ dokusu yıkımı hakimdir (Emingil, 2010). Bakterilerce veya kompleman sistemi tarafından uyarılan makrofajlar IL-1 β , tümör nekrozis faktör (TNF)- α ve nötrofil kemotaktik faktör'ü ortamasalarlar ve inflamatuvar cevabı artırır. Bakteriler tarafından açığa çıkan LPS'nin uyarısıyla dişetindeki makrofajların ürettiği bu kemokinler daha fazla nötrofil, makrofaj ve lenfositin

damarlardan bölgeye göçünü sağlarlar. Nötrofillerden salınan kolajenaz, elastaz, katepsin G, reaktif oksijen türleri ve plazmin gibi lizozomal granül içeriği lokal doku yıkımlarına neden olur (Smalley, 1994). Makrofajlardan salınan MMP'ler, PGE₂, TNF- α , interferon(IF)- γ , transforme edici büyüme faktörü- β , IL-6, IL-1 β , IL-1 α gibi sitokinler spesifik immün cevabı ve iltihabi yanıtı güçlendirirerek kollajen doku yıkımını artırır (Emingil, 2010). Dokuyıkımı makrofajlardan salgılanan sitokinlerce direkt olarak meydana gelebileceği gibi dolaylı yoldan fibroblast gibi hücrelerden doku yıkıcı enzimlerin salgılanmasını tetikleyerek de meydana gelir (Dennison and Van Dyke, 1997).

Akut ve kronik inflamatuvar olayları, kompleman sistemi aracılığıyla üretilen maddeler düzenler. Aktive olan kompleman sistemi birer anaflatoksin olan C3a ve C5a'yı üretir. Anaflatoksinler lökositlerin ve mast hücrelerinin degranule olmasını sağlayarak vasküler değişiklikleri dolaylı yoldan tetiklerler. İnflamasyon ilerledikçe dişeti bağ dokusundaki mast hücresi sayısı artar (Nisengard ve ark., 2007). Mast hücrelerinden akut ve kronik inflamatuvar cevabı düzenleyen IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-4, IF- γ , transforme edici büyüme faktörü- β gibi proinflamatuvar ve antiinflamatuvar medyatörler salgılanır. Enfeksiyon bölgesinde üretilen proinflamatuvar sitokinler akut faz cevabına neden olur. Bu proinflamatuvar medyatörler karaciğerde hepatositleri uyarır. Böylece aktive olmuş karaciğer hepatositleri tarafından akut faz proteinleri üretilir. Akut faz proteinleri mikroorganizmaları etkisiz hale getirerek ve kompleman sistem elemanlarını aktive ederek konak immün cevabına katılır (Emingil, 2010).

Kronik inflamatuvar bir hastalık olan periodontitis, histolojik olarak lenfosit (T ve B lenfositler) ve monosit hücre içeriği, bağ dokusu hasarı ve kemik rezorpsiyonu ile karakterizedir. Moleküler düzeyde incelendiğinde periodontitiste, inflamatuvar cevabın bir sonucu olarak IL-1 β , TNF- α , IL-6, PGE₂ ve MMP'ler gibi kollajen ve ekstrasellüler matriks yıkımında rol alan inflamatuvar medyatörlerin dokudaki seviyesinin artışı görülür (Yamazaki ve ark., 2003). Dahası, bu inflamatuvar medyatörlerin ağız ortamından sistemik dolaşıma yayılmasıyla sistemik inflamatuvar durumlar ortaya çıkabilir ya da var olan sistemik inflamatuvar hastalık şiddetlenebilir (Moutsopoulos ve Madianos, 2006). Ancak, periodontal hastalık gibi lokal inflamatuvar hastalıkların sistemik inflamasyon üzerindeki etki mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

Periodontal hastalıkta mikroorganizmalar ve ürünlerine karşı sistemik ve lokal üretilen spesifik antikorlar ve nötrofiller tarafından konağı korumak için salınan inflamatuvar medyatörler; lokal olarak tükürük ve DOS'ta, sistemik olarak ise serumda saptanabilir. Bakteri antijenlerine karşı oluşan sistemik sıvısal immün cevap, subgingival plaktaki mikroorganizmaların ve ürünlerinin dolaşıma katılması ve dolaşım yoluyla tekrar dışına girmesiyle meydana gelir (Ebersole, 2003; Emingil, 2010).

2.4. Periodontal Hastalıklarda Akut Faz Cevabı

Akut faz cevabı; organizmanın hemostazını lokal ya da sistemik olarak bozan infeksiyon, travma, doku hasarı, cerrahi, neoplastik büyümeler ya da immünolojik bozukluklara karşı oluşan bir dizi reaksiyonlardır (Gyrus ve ark., 2005). Bu cevapların amaçları, hemostazı yeniden kurmak ve meydana gelen bozuklukların etkenini ortadan kaldırmaktır. Akut faz reaksiyonları; ateş, nötrofili, lipid metabolizmasında değişiklikler, çinko ve demir tutulumunda artış, glukoneogenezin artması, plazma proteinlerinin sentez ve katabolizmasındaki artma ve azalmalar, kompleman ve koagülasyon yollarının aktivasyonu, hormonal değişiklikler ve akut-faz proteinlerinin indüksiyonunu içerir (Kushner, 1982; Baumann ve Gauldie, 1994; Koj, 1985; Moshage, 1997). Çeşitli hücrel faktörlerin sekresyonuna ve direkt stimülasyonuna karşı akut faz cevabını başlatan en yaygın hücre doku makrofajlarıdır (Koj, 1996; Ebersole ve Cappelli, 2000). Ayrıca akut faz cevabında, kandaki platelet ve polimorfonükleer lökositlerin sayısında artış gözlenir (Bauman veGauldie, 1994; Ebersole ve Cappelli, 2000). Makrofajların aktivasyonu, plateletlerin agregasyonu, damar geçirgenliğinde artış, biyolojik sıvıların dokulara transüstasyonu ve dolaşımdaki lökositlerin migrasyonu gerçekleşir. Akut faz cevabı primer savunma reaksiyonudur ve endotoksin gibi bakteriyel ürünlere karşı koruma başlatır (Koj, 1996). Sistemik akut faz cevabı, hayatı garanti altına almak için hasarın hemen ardından meydana gelir. Organizma, bir grup plazma proteininin intravasküler sekresyonunun hızla uyarılmasına ve hepatik sentezin artışına cevap verir. Hasarlı bölgede akut faz proteinlerinin plazma konsantrasyonundaki artışın yara iyileşmesinde büyük bir rol oynadığını gösteren kanıtlar mevcuttur. Ayrıca; akut faz proteinlerinin ekstrasellüler proteazların inhibisyonunda, kanın pıhtılaşmasında, fibrinolizde, immün hücre fonksiyonlarının modülasyonunda ve dolaşımdan gelen zararlı komponentlerin nötralizasyonunda önemli

rollere sahip olduğu bulunmuştur (Vadas ve ark., 1997). Doku hasarının bulunduğu bölgeden sentezlendikleri düşünölen bu proteinlerin serumdaki dönüşömleri hızlıdır. Bu proteinlerin düzeylerinin yükselmesinden önceki döneme lag fazı denir. Lag fazı esnasında alınan serumun hayvanlarda veya organ kültürlerinde akut faz proteinlerini uyarma yeteneğini aktarabildiği gösterilmiştir. Bu ise uyarıcı faktörlerin bulunduğunun bir kanıtıdır (Ay ve ark., 1998).

Akut faz proteinlerinin sentezinin sitokinler tarafından uyarıldığı ve düzenlendiği gösterilmektedir. Akut faz cevabı ile ilişkili sitokinler 3 gruba ayrılabilir. 1) reaksiyonları başlatan ve hızlandıran proinflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL-1, IF- γ ve IL-8); 2) çeşitli dokulardaki akut faz cevabının sistemik özelliklerinden sorumlu olan IL-6 tipi sitokinler (IL-6, lökemi inhibitör faktör, IL-11, onkostatin M, silier nörotrofik faktör ve kardiyotrofin-1); 3) akut faz cevabını inhibe eden antiinflamatuvar sitokinler (IL-10, IL-4, IL-13 ve Transforme edici büyüme faktörü- β). Bu sitokinlerin hiçbiri, akut faz proteinlerinin tamamını uyarılmamaktadır. Esas akut faz proteinleri, hasara karşı oluşan cevapta hemostatik görev yapan glikoproteinlerdir. Bu proteinlerin bir kısmının serum konsantrasyonu enfeksiyon sırasında hızlıca artar ve 2 katından 100 katına çıkabilir (Vadas ve ark., 1997; Ebersole ve Cappelli, 2000). Akut faz proteinleri, tip 1 ve tip 2 akut faz proteinleri olmak üzere 2 gruba ayrılır (Baumann ve Gauldie, 1994; Moshage, 1997). Tip 1 proteinler; serum amiloid A (SAA), C-reaktif protein (CRP; insan), kompleman C3, haptoglobin (rat), ve α 1-asit glikoproteinlerdir ve bunlar IL-1 benzeri sitokinlerle (IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , TNF- β) uyarılırlar. Tip 2 proteinler ise; fibrinojen, haptoglobin (insan), α 1-antikimotripsin, α 1-antitripsin ve α 2-makroglobulinleri (rat) içerir. Bunlar da IL-6 benzeri sitokinler olan IL-6, lökemi inhibitör faktör, IL-11, onkostatin M, silier nörotrofik faktör ve kardiyotrofin-1 tarafından uyarılırlar (Baumann ve Gauldie, 1994). Genelde, IL-6 benzeri sitokinler tip 1 akut faz proteinlerini uyarda IL-1 benzeri sitokinlerle sinerjistik çalışırlar (Moshage, 1997).

İnfeksiyöz ve inflamatuvar hastalıkların değerlendirilmesinde akut faz reaktanlarının seviyesinin kullanımı net bir şekilde ortaya konmuştur (Ebersole ve Cappelli, 2000). Proinflamatuvar sitokinler ve medyatörler periodontal hastalıkların dekstruktif safhası boyunca gingival inflamasyonla önemli oranda artmaktadır (Kinane

ve ark., 1991; Page, 1991; Tonetti ve ark.,1993; Ebersole ve ark., 1993; Ebersole ve Cappelli, 2000). Periodontal hastalıkların klinik bulguları, lokal inflamasyonu ve lokal doku yıkımını tanımlamaktadır. Lokalize gingival inflamatuvar hastalıkların bir sonucu olarak DOS içerisinde çeşitli akut faz proteinlerinin seviyesinde artış gözlenmektedir (Kinane ve ark., 1991). Bu moleküller, gingival sulkustaki konak-mikroorganizma etkileşiminin bir sonucu olarak dişeti oluğunda değişimlere uğrayabilirler ve konak savunmasına katkıda bulunabilirler. Progresif periodontal hastalıklarla ilişkili doku yıkımında ve klinik semptomlarda büyük rol oynayan sitokinler, çeşitli kronik inflamatuvar hastalıklarda sistemik akut faz cevabı oluşturur (Page, 1991; Ebersole ve Cappelli, 2000). Bu sitokinlerin çoğu makrofajlardan köken alır ve fibroblast ve endotelial hücreler gibi diğer hücrelerden sitokin salınımının artmasında rol oynar. Bu olay, lokal dokularda oluşup sistemik akut faz cevabını başlatabilir (Baumann ve Gaudie, 1994). Birçok sitokinin gingival dokularda ve DOS'ta görülmesi lokal akut faz cevabında değişimlere yol açabilir (Page, 1991; Kjeldsen ve ark., 1993; Fujihashi ve ark., 1994). Akut faz proteinlerinin deneysel gingivitis ve periodontitiste gingival inflamasyonla beraber arttığı görülmektedir (Kinane ve ark., 1991; Ebersole ve Cappelli, 2000). IL-1 α ve IL-1 β 'nin total seviyesi, IL-1 reseptör antagonistinin ise bir miktarı alveol kemiği kaybı miktarı ile ilişkili bulunmuştur (Ishihara ve ark., 1997).

Periodontitis çalışmalarının büyük bir kısmı periodonsiyumda ve gingival sulkusta konak-bakteri ilişkisinin lokal durumunu gösterirken, diğer yandan bu hastalığın sistemik etkileri de gözlenebilmektedir (Seymour ve ark., 1993;Kjeldsen ve ark.,1993). Periodontal hastalık; diabet, romatoid artrit ve kardiyovasküler hastalıklar gibi diğer inflamatuvar hastalıklarla ilişkilidir (Lagerval ve ark., 2003). Periodontitis geliştiğinde lokal inflamatuvar medyatörlerde (Page, 1991; Ebersole ve Cappelli, 2000), konak cevabında (Ebersole ve Cappelli, 2000) ve bakterilere karşı oluşan serum antikor cevabında (McArthur ve Clark, 1993; Ebersole ve Cappelli, 2000) değişiklikler meydana gelir. Sonuç olarak bu bulgular, lokalize inflamasyonun sistemik olarak da konağı etkileyeceğini desteklemektedir. Ayrıca yapılan çalışmalar hastalığın şiddeti arttıkça sistemik değişikliklere yol açabileceğini göstermiştir. Hastalığın en şiddetli seyrettiği hasta gruplarında her akut faz proteininin de en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. Şiddetli periodontal hastalığı olan bireyler, periodontal hastalığı olan bireylerin bir alt grubudur ve hastalığın yaygın ve hızlı ilerlemesi açısından yüksek risk

taşırlar. Dolayısıyla hastalığa olan eğilimi ya da direnci etkilemesi yönünden akut faz proteinlerinin değerlendirilmesinde örnek olarak kullanılabilirler (Ebersole ve Cappelli, 2000). Bu bilgiler doğrultusunda, periodontal hastalığın şiddetli seyrettiği bireylerdeki artmış inflamatuvar cevabın akut faz proteinleri seviyesinde de artışa neden olacağı düşünülmüştür. Bu nedenle, serum akut faz proteinlerinin ölçümü destrüktif periodontal hastalık için risk altındaki bireyleri tanımlamada ve periodontal yıkım gösteren hastaların tespitinde önemli olabilir (Ebersole ve Cappelli, 2000).

CRP, periodontal inflamasyonu değerlendirmede önemli bir akut faz proteindir ve yapılan çalışmalarda periodontitisli hastalarda serum CRP seviyesi, periodontal olarak sağlıklı bireylere göre önemli oranda yüksek bulunmuştur (Cairo ve ark., 2008; Higashi ve ark., 2008). Ayrıca CRP, periodontitisli bireylerde DOS'ta da yüksek seviyede gözlenmiştir (Tüter ve ark., 2007; Fitzsimmons ve ark., 2009; Fitzsimmons ve ark., 2010; Megson ve ark., 2010).

Periodontal yıkımın önlenmesi primer olarak önemlidir. Dolayısıyla erken müdahale, daha spesifik tedavi seçenekleri ve tedavi başarısının daha etkili değerlendirilmesi periodontolojide önemli alanlardır. Bu anlamda çeşitli çalışmalarda etkili periodontal tedavinin serum CRP seviyelerini düşürdüğü rapor edilmiştir (Paraskevas ve ark., 2008; Offenbacher ve ark., 2009).

CRP ve haptoglobin gibi akut faz proteinlerinin serumdaki seviyesinin, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında periodontitisli bireylerde önemli oranda arttığı gösterilmiştir (Ebersole ve ark., 1997). Dolayısıyla, bu iki akut faz proteininin lokalize periodontitis infeksiyonuna karşı sistemik dolaşımında artması, konağın kendini sistemik infeksiyonlardan koruması adına önemli bir bulgudur. Yani akut faz cevabı, periodontal hastalıkların sistemik hastalıklara katkıda bulunduğunu gösteren bir belirleyici olarak kullanılabilir. Birçok çalışma periodontitisle koroner arter hastalığı arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Matilla ve ark., 1993; Pejcic ve ark., 2011). Periodontitis hastalarında serum fibrinojen seviyesinin ve beyaz kan hücrelerinin artmasının, koroner arter hastalıkları için önemli risk faktörü oluşturduğu rapor edilmiştir (Kweider ve ark., 1993). Ayrıca, periodontopatojenlere karşı oluşan immün cevap ile aterom plaklarının oluşmasıyla gelişen inflamasyon ve kardiyovasküler hastalık arasındaki ilişkiyi gösteren bilgiler desteklenmiştir (De Nardin, 2001). Yapılan başka bir çalışmada, periodontal

hastalık ile koroner arter hastalığı ve tip 2 diabet arasındaki ilişki akut faz proteinlerinin etkisi yönünden değerlendirilmiş ve periodontitisin yüksek CRP ve fibrinojen seviyelerine bağlı olarak sistemik hastalıklara katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır (Keleş ve ark., 2007).

2.5. Akut Faz Proteinleri

Akut faz proteinleri, infeksiyon ya da inflamasyon sonrasında hemostazı yeniden sağlamak için önemli fonksiyonlara sahiptir. Bunlar, hemostatik fonksiyonlar (fibrinojen), antimikrobiyal ve fagositik fonksiyonlar (kompleman komponentleri, CRP), antitrombotik özellikler (α 1-asitglikoprotein), ve antiproteolitik özellikler (α 2-makroglobulin, α 1-antitripsin, α 1-antikimotripsin) gibi fonksiyonları içerir (Moshage, 1997). Birçok akut faz proteini hepatositler tarafından sentezlense de, bazı akut faz proteinleri de monositler, endotelial hücreler, fibroblastlar ve adipositler gibi hücrelerce sentez edilir (Steel ve Whitehead, 1994). Güçlü akut faz proteinleri olan CRP, α 2-makroglobulin ve SAA inflamatuvar stimulus karşısında hızlı cevap verir ve serumdaki seviyeleri birkaç 100 katına çıkabilir (Kushner, 1991; Raynes, 1994; Ebersole ve Cappelli, 2000). Orta düzeydeki akut faz proteinleri olan haptoglobin, fibrinojen ve α 1-antitripsin serum seviyeleri 2-10 katına çıkabilirken, zayıf düzeydeki akut faz proteinleri olan kompleman komponenti C3 ve serüloplazmin seviyeleri ise 2 katına çıkabilir (Raynes, 1994; Ebersole ve Cappelli, 2000).

Hepatositler tarafından sentezlenen CRP; inflamasyonla ilişkili önemli bir akut faz proteini olup proinflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırmaktadır (Wewers, 1997). Yani, CRP periferik mononükleer kan hücrelerinden ve alveolar makrofajlardan IL-1 α , IL-1 β , TNF- α ve IL-6 sentezini uyarır. Bunun yanında CRP antiinflamatuvar etkiye de sahiptir (Hogarth ve ark., 1997). Periodontal inflamasyonla ilişkisine bakıldığında, periodontal hastalık varlığında CRP seviyesinin DOS, dişeti dokusu ve serumda yükseldiği, dolayısıyla sistemik bir hiperinflamatuvar cevap oluşturduğu ve sistemik hastalıkların oluşumunda ya da gelişmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Megson ve ark., 2010; Pejcic ve ark., 2011).

Akut faz cevabının diğer bir belirleyicisi olan SAA; akut miyokard infarktüsünde, travmayı takiben ve herpes gibi viral infeksiyonlarda yüksek seviyelere

ulaşmaktadır (Schultz ve Arnold, 1990; Arvidsson, 1998; Ay ve ark., 1998). Özellikle kronik inflamatuvar hastalıklarda olmak üzere inflamasyon sürecinde seviyesi 1000 katına kadar çıkabildiği gösterilmiştir (Ebersole ve Cappelli, 2000).

α 2-Makroglobulin; hemostaz, koagülasyon, fibrinolizis ve kompleman aktivasyonu ile ilişkili fonksiyonlara sahip olan tip 2 akut faz proteinlerinden biridir. İnflamasyona bağlı olarak serum seviyesi hızlıca artabilen bu protein, IL-1, IL-6, TNF- α , transforme edici büyüme faktörü- β ve platelet derive büyüme faktörüne bağlanarak aktivitesini değiştirme yeteneğine sahiptir (Moshage, 1997).

α 1-Asidglikoprotein; insanda bulunan önemli bir tip 1 akut faz proteindir. İnflamasyonda akut faz reaksiyonu boyunca α 1-asidglikoprotein seviyesi yükselirken, deneysel uygulamada glukokortikoid verilmesiyle de sentezi indüklenmiştir (Ay ve ark., 1998). α 1-Asidglikoprotein ayrıca immünregulator rol oynamaktadır, bazı hormonları ve ilaçları bağlama özelliği vardır (Ebersole ve Cappelli, 2000).

Tip 2 akut faz proteinlerinden olan α 1-Antitripsin; inflamatuvar bölgedeki nötrofillerden salınan, öncelikle proteazları olmak üzere nötrofil elastaz, pankreatik tripsin ve kimotripsin, nötrofil katepsin G, trombin, plazmin, ve kollajenazları inaktive eden bir akut faz reaktanıdır (Arvidsson, 1998; Ay ve ark., 1998). Elastaz, elastin ve kollajeni yıkan endojenöz bir enzimdir ve α 1-antitripsine bağlandığında proteazların aktivitesi tamamen inhibe olur. α 1-Antitripsin, inflamatuvar oluşumlarla stimüle olur ve 4 katına kadar artabilir (D'Armiento ve ark., 1997). Mevcut bilgiler α 1-antitripsinin primer fonksiyonunun nötrofil elastaz aktivitesinin kontrolü olduğunu göstermektedir. Çünkü bu enzimin inhibisyon hızı diğer herhangi bir proteinaz enziminin inhibisyon hızından yaklaşık 10 kat daha fazladır. Bu inhibitörün sentezinde bozukluk olan kişilerde, diğer bireylere göre bağ dokusu hastalıkları (romatoid artrit) ve diğer inflamatuvar hastalıkların gelişimi bakımından daha fazla risk taşırlar. Çünkü bu protein yokluğunda proteazlar inflamasyonlu dokuyu yıkıma uğratar ve kronik inflamasyona neden olur (Ay ve ark., 1998).

α 1-Antikimotripsin; çok hızlı ortaya çıkan bir akut faz proteindir. İnflamasyonun başlangıcında α 1-antikimotripsin seviyesi hem α 1-antitripsin, hem de

α 1-asitglikoproteine göre daha hızlı yükselir. α 1-antikimotripsin seviyeleri inflamatuvar hastalıklarda, kronik nefritte ve kollajen doku hastalıklarında artar (Ay ve ark., 1998).

Haptoglobin; strese, infeksiyona, akut inflamasyona veya doku nekrozuna cevap olarak sentezinin stimüle edilmesiyle yükselir (Wang ve ark., 1996). Normal seviyesinin 2-10 katına çıkabilir ve bu artışın biyolojik öneminin diğer akut faz proteinlerinin (CRP) yanında daha az olduğu görülmüştür (D'Armiento ve ark., 1997). Periodontal hastalığı olan bireylerde yapılan bir çalışmada da, periodontal sağlıklı bireylere göre hem CRP hem de haptoglobinin serumdaki seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (Ebersole ve ark., 1997).

Plazmada dolaşan eriyebilir bir molekül olan fibrinojen; bir pozitif akut faz proteini olduğundan, plazma seviyesi ilk 24 saatte 3-4 kat artar ve inflamatuvar stimulusu takiben 3 gün sonra en yüksek değere ulaşır (Bogaty ve ark., 1998). Periodontal hastalıklarda yapılan çalışmalarda, sağlıklı kontrol grubuna göre periodontal hastalığı olan bireylerde fibrinojen seviyesinin yükseldiği rapor edilmiştir (Kweider ve ark., 1993; Schwan ve ark., 2004). Periodontitisin sistemik inflamasyonla olan ilişkisinin incelendiği diğer bir çalışmada da, şiddetli periodontitisi olan hastalarda plazma fibrinojen ve CRP seviyelerinde artış olduğu ve periodontal hastalığın sistemik hastalıklar için risk oluşturacağı görüşüne varılmıştır (Buhlin ve ark., 2009).

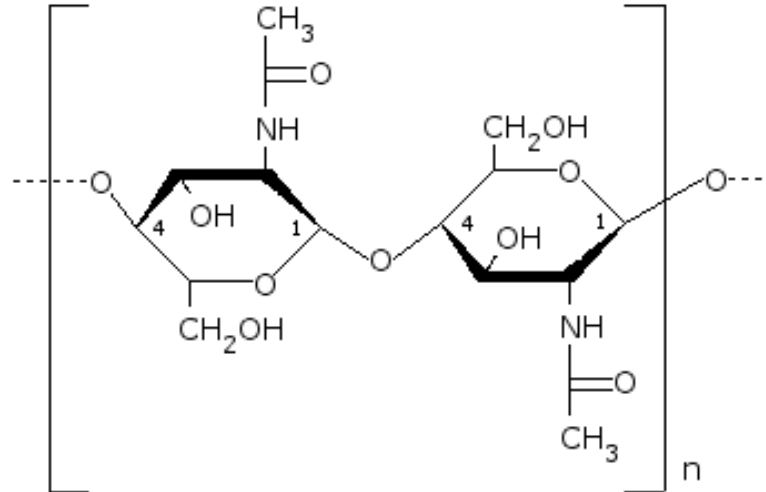
Bir grup serum proteininden oluşan ve genel fonksiyonu inflamasyonu düzenlemek olan kompleman sisteminin C3 ve C4 komponentleri akut faz proteindir ve inflamasyon sürecinde artış göstermektedir. Bu komponentler birbirleriyle ve de doğal veya kazanılmış immün sistemin diğer elemanlarıyla ilişkiye geçerler ve inflamasyon esnasında serum konsantrasyonları yükselir (Schultz ve Arnold, 1990; Ebersole ve Cappelli, 2000).

Diğer bir akut faz proteini olan serüloplazminin; akut faz cevabı esnasında konsantrasyonu %50 artmakta olup, bu artış Hodgkin gibi retikuloendotelyal hastalıklarda daha belirgindir (Ay ve ark., 1998).

Albümin ve transferrin ise; inflamasyon sırasında azalan negatif akut faz proteinleridir. Mikroorganizmaların büyüme ve virülansı için gerekli olan demir ihtiyacını karşılayabilen potansiyel proteinlerdir (Ebersole ve Cappelli, 2000).

2.6. YKL-40

YKL-40, ilk kez 1989 yılında *invitro* olarak insan osteosarkom hücrelerinden, 1993 yılında da *invivo* olarak insanlarda salgılandığı tespit edilmiş bir glikoproteindir (Johansen ve ark., 1992; Hakala ve ark., 1993). Adını 3 NH₂-terminal aminoasitler olan tirozin (Y), lizin (K), lösin (L) ve 40kDa olan moleküler ağırlığından almaktadır (Johansen ve ark., 1992). YKL-40 proteini, kitinaz 3 benzeri protein 1 (CHI3L1), 38-kDa heparin bağlayan glikoprotein ya da insan kartilaj glikoproteini 39 (HC gp39), olarak da bilinmektedir (Hakala ve ark., 1993; Rehli ve ark., 1997) (Şekil 1). YKL-40, 383 aminoasit içeren tek polipeptid zincirinden oluşmakta ve aminoasit dizisinden dolayı glikozil hidrolaz 18 ailesinden köken almaktadır (Henrissat ve Bairoch, 1993). YKL-40 geni, kromozom 1q31-q32 üzerinde olup 10 ekzon ve yaklaşık 8kb genomik DNA içerir. Kristallografik üç boyutlu yapıya sahip olan YKL-40, kitine bağlanır ancak kitinaz aktivitesi göstermez (Johansen ve ark., 2006). İnsanlarda bulunan YKL-40 proteininde, katalitik glutamik asitin löesine, katalitik aspartik asitin de alanine mutasyonu vardır. Bu mutasyonlar nedeniyle YKL-40'ın hidrolaz aktivitesi inhibe olmuştur. Glikolizasyon YKL-40 proteininin yapısal özelliğidir. Ayrıca, YKL-40 heparine bağlanır ve heparan sülfat bu proteinin geniş bir ligandında yer almaktadır. Yine aminoasit dizisindeki incelemeler, YKL-40'ın hyaluronan bağlayıcı alanlarının mevcut olduğunu göstermektedir (Johansen, 2006).



Şekil 1. YKL-40 akut faz proteininin kimyasal yapısı

(<http://allergyntotes.blogspot.com/2012/08/chitinase-3-like-1-protein-ykl-40.html>, 2013'den alınmıştır)

YKL-40, *invitro* olarak nötrofiller, aktive olmuş makrofajlar ve farklılaşmanın son safhalarındaki makrofajlar, farklılaşmış vasküler düz kas hücreleri, artritlik kondrositler ve fibroblast benzeri sinoviyal hücreler tarafından, *invivo* olarak da inflame dokulardaki bir grup makrofajlar, romatoid artrit ve osteoartrit hastalarının inflame sinoviyal membranları, aterosklerotik plaklarda düz kas hücreleri tarafından salgılanmaktadır (Rathcke ve Vestergaard, 2006b; Johansen ve ark., 2006).

Biyolojik fonksiyonları tam olarak bilinmemekle birlikte hücrelerin proliferasyonunda ve farklılaşmasında, fibroblastların stimülasyonunda, ekstrasellüler matriks remodelasyonunda ve angiyojenезisin uyarılmasında rol oynadığı düşünülmektedir (Johansen ve ark., 2006). Ekstrasellüler matriks remodelasyonundaki etkisi büyüktür. Ekstrasellüler matriksin önemli bir komponenti ve insanlarda en yaygın bulunan glikozaminoglikanlardan biri olan hyaluronan sentezini kesintiye uğratarak doku remodelasyonu sırasındaki hücre adezyon ve migrasyonunu etkiler (Hakala ve ark., 1993; Johansen, 2006). Ancak hyaluronan üzerinde dejeneratif bir etki yaratmamaktadır.

YKL-40; fibroblastlar, kondrositler ve sinoviyal hücreler için bir büyüme faktörü olarak görev yapmakta olup proliferasyon, insülin benzeri büyüme faktörü-1'in etkin konsantrasyonu ile meydana gelmektedir. YKL-40 ve insülin benzeri büyüme faktörü-1, fibroblastların proliferasyonunun uyarılmasında sinerjistik olarak çalışmaktadır (Rathcke ve Vestergaard, 2006; Johansen, 2006).

YKL-40, fibroblastlarda mitojen aktive protein kinaz ve fosfoinositid-3 kinaz sinyal yollarını başlatarak mitogenезisin kontrolünü sağlar. Bu özelliği YKL-40'ın antiapoptotik bir protein rolünde olduğunu göstermektedir (Recklies ve ark., 2002).

YKL-40, endotelial hücreler için bir kemoatraktan olarak görev yapmakta, vasküler endotelial hücrelerin adezyon, migrasyon ve reorganizasyonunu uyararak anjiyojenезiste rol almaktadır (Malinda ve ark., 1999).

Monositlerin makrofajlara farklılaşması sırasında YKL-40 sentezinin artması, YKL-40'ın bir farklılaşma medyatörü olabileceğini düşündürmüştür (Rehli ve ark., 1997; Rehli ve ark., 2003). Aynı şekilde mezenkimal hücrelerin fibroblast benzeri yapıya farklılaşması, vasküler düz kas hücrelerinin farklılaşması ve kondrositlerin de

fibroblast benzeri hücrelere farklılaşması sırasında YKL-40 sentezinin arttığı görülmüştür (Shackelton ve ark., 1995; Stokes ve ark., 2002; Sun ve ark., 2004).

Bu fonksiyonlarının yanı sıra, bir akut faz proteini olan YKL-40, patojen bakterilere karşı çeşitli immün sistem hücreleri tarafından salgılanarak konak savunma mekanizmasında rol alır. İnflamatuar bir stimulusu takiben plazma konsantrasyonu geri dönüşümlü olarak %25'den daha fazla artmaktadır (Johansen, 2006). İnflamatuar hastalıklarda dolaşımdaki YKL-40 konsantrasyonunun en büyük kaynağı aktive olmuş makrofajlar ve nötrofillerdir. İnflamatuar kronik hastalıklarda bağ dokusunun hemostazını sağlamak için, ekstrasellüler matriks yıkımı sırasında seviyesi yükselmektedir. Ancak, hastalığa spesifik inflammatuar bir molekül değildir. Yapılan klinik araştırmalarda YKL-40 sekresyonundaki artış birçok hastalığın patogeneziyle ilişkili bulunmuştur. Romatoid artrit, osteoartrit, tip 2 diabetes mellitus, ateroskleroz gibi çeşitli hastalıklarda YKL-40 sentezinin artması, bu proteinin inflamasyon, ekstrasellüler remodelasyon ve fibrozis ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Zyvanovic ve ark., 2009; Michelsen ve ark., 2010; Rondbjerg ve ark., 2011; Güngen ve ark., 2011).

Romatoid artritte yapılan çalışmalarda, YKL-40 inflammatuar medyatörünün hastalıklı bireylerde serumdaki seviyesinin arttığı belirtilmiş ve bu akut faz proteininin hastalık aktivitesinde yeni bir belirleyici olabileceği rapor edilmiştir (Peltomaa ve ark., 2001; Johansen, 2006, Kazakova ve ark., 2013). Romatoid artrit ve osteoartrithastalıklarındaki diğer çalışmalarda serumda ve sinoviyal sıvıda yükseldiği bulunan YKL-40'ın sinoviyal inflamasyon ve artiküler kartilaj yıkım derecesini yansıttığı, serum seviyesindeki artışın hastalığın ilerleyişiyle doğru orantılı olarak arttığı sonucuna varılmıştır (Johansen ve ark., 1993; Johansen ve ark., 1996; Johansen ve ark., 2001a).

YKL-40, endotelyal disfonksiyon ve aterosklerozda da önemli rol oynamaktadır. Endotelyal disfonksiyonda, endotel hasarına karşı oluşan doku cevabında hücre atışmanı ve göçüyle ilişkili olarak YKL-40 seviyesinin artmış olduğu gözlenir (Shackelton ve ark., 1995; Malinda ve ark., 1999). Ayrıca, *invitro* çalışmalarda YKL-40'ın vasküler endotel hücrelerin kemotaksisini, adezyon ve migrasyonunu uyararak aterom plaklarının oluşumunda etkili olduğu gösterilmiştir (Malinda ve ark., 1999). Ateroskleroz gelişiminin hem erken hem de geç dönemiyle yakından ilişkili bir molekül

olan YKL-40, aterom plaklarında makrofajlar tarafından salgılanarak aterosklerozun erken lezyon safhasında en fazla artış göstermektedir (Booth ve ark., 1999). Bu nedenle aterosklerozun erken döneminde biyolojik bir belirleyici olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

Kardiyovasküler hastalıklarda yapılan çalışmalarda, akut miyokard infarktüsü veya stabil koroner arter hastalığı olan bireylerde sağlıklı kontrol grubuna göre YKL-40 seviyesinin arttığı saptanmıştır (Kucur ve ark., 2007; Nojgaard ve ark., 2008; Wang ve ark., 2008; Kastrup ve ark., 2009; Hedegaard ve ark., 2010). Stabil iskemik kalp hastalığı olan 204 hastada plazma YKL-40 konsantrasyonunun değerlendirildiği bir çalışmada, sağlıklı kontrol grubuna kıyasla YKL-40 akut faz proteininin yükseldiği bildirilmiştir (Mathiasen ve ark., 2011). YKL-40 ve kardiyovasküler mortalite ilişkisini inceleyen iki geniş çaplı çalışmada, kardiyovasküler hastalığı olan ya da olmayan bireylerde YKL-40 proteininin kardiyovasküler mortalite için bağımsız bir belirleyici olabileceği görüşüne varılmıştır (Kastrup ve ark., 2009; Rathcke ve ark., 2009a). Bu bulgular dahilinde, YKL-40 düzeyinin koroner arter hastalıklarında inflamatuvar aktivitenin bir ölçütü olabileceği ve akut koroner sendromlar ya da ölümün gerçekleşmesinde bir risk belirleyicisi olarak kullanılabilceği görüşüne varılmıştır.

Periodontal hastalığın 6. komplikasyon olarak literatüre girdiği tip 1 ve tip 2 diabetes mellitus hastalığında da, inflamasyona bağlı olarak plazma YKL-40 seviyelerinin yükseldiği, ayrıca tip 2 diabet hastalarında artmış YKL-40 konsantrasyonunun insülin direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Rathcke ve ark., 2006a; Nielsen ve ark., 2008; Rathcke ve ark., 2009b). YKL-40 ile hemoglobin A1c gibi glisemik parametreler arasında da korelasyon olduğu belirtilmiştir (Nielsen ve ark., 2008). Tip 2 diabeti olan hastalarda plazma YKL-40 seviyesinin değerlendirildiği çalışmada hastalık varlığında bu protein düzeyinin arttığı, bunun yanında proinflamatuvar bir sitokin olan IL-6 seviyesinin de plazma konsantrasyonunun yükseldiği ve plazma YKL-40'ın plazma IL-6 ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Nielsen ve ark., 2008).

Diabetli bireyler artan albüminüri nedeniyle kardiyovasküler hastalıklar için risk altındaki bireylerdir. Tip 1 diabet hastalarında yapılan bir araştırmada, yükseldiği bulunan plazma YKL-40 seviyesi ile artan albüminüri arasında pozitif bir ilişki

gözlenmiştir (Rathcke ve ark., 2009b). Tip 2 diabet hastalığında YKL-40 inflamasyon molekülünün kardiyovasküler mortaliteye olan etkisini inceleyen çalışmada da, tip 2 diabet ve artan albüminüriye sahip hastalarda, YKL-40 proteinindeki yükselmenin kardiyovasküler mortaliteyi arttırdığı bildirilmiştir (Persson ve ark., 2012).

Koroner arter hastalığı hikayesi olan ve olmayan tip 2 diabet hastalarında YKL-40 akut faz protein seviyesi değerlendirilmiş ve koroner arter hastalığı olan diabetik bireylerde anlamlı oranda daha yüksek olduğu saptanmıştır (Kim ve ark., 2012).

Akut faz proteinlerinin sentezi, lokal ve sistemik inflamatuvar ve immün cevapları yönlendiren sitokinler tarafından düzenlenmektedir. IL-6, akut faz cevabında akut faz protein sentezini sağlayan majör düzenleyici sitokindir (Castell ve ark., 1990). Erişkin insan hepatositlerinde sadece IL-6, pozitif akut faz proteinlerinin sentezini uyarır. Bunun yanında, negatif akut faz proteinlerinden olan CRP'yi de uyarma yeteneğine sahiptir (Castell ve ark., 1990). YKL-40'ın da, CRP'ye benzer şekilde proinflamatuvar sitokinler tarafından uyarıldığı düşünülmektedir. Yapılan insan kondrosit ve kartilaj kültür çalışmalarında, YKL-40 mRNA sentezinin proinflamatuvar sitokinler olan IL-1 β tarafından inhibe edildiği, TNF- α 'nın YKL-40 sentezi üzerine etkisinin olmadığı, IL-6 tarafından ise stimüle edildiği bildirilmiştir (Xing ve ark., 1998; De Ceuninck ve ark., 1998; Johansen ve ark., 2001b). İnsan sinoviyal hücrelerinde YKL-40 akut faz proteini sentezi üzerine yapılan *invitro* bir çalışmada da, IL-1 β ve TNF- α sitokinlerinin YKL-40 sekresyonuna bir etkisi olmadığı gösterilmiştir (Nyirkos ve ark., 1990).

Herhangi bir hastalığı bulunmayan 20 sağlıklı erkek birey üzerinde yapılan klinik bir çalışmada plazma YKL-40 sentezini uyarabileceği düşünülen IL-6 ve TNF- α sitokinleri değerlendirilmiştir (Nielsen ve ark., 2011). Bireylere IL-6 ve TNF- α infüzyonları yapılarak YKL-40 sentezindeki değişim gözlenmiş ve IL-6 infüzyonu yapıldığında YKL-40 seviyesinin 24 saatte 30 ng/ml'den 57 ng/ml'ye yükseldiği, TNF- α infüzyonu yapıldığında ise YKL-40 seviyesinde herhangi bir değişim olmadığı görülmüştür. Bu çalışma, inflamasyon sırasında plazma YKL-40 seviyesinin düzenlenmesinde IL-6'nın önemli bir rolü olduğunu, TNF- α 'nın ise bir etkisi olmadığını göstermektedir.

Başka bir çalışmada büyüme hormonu eksikliği görülen hastalarda CRP, YKL-40 ve IL-6 seviyelerinin tedavi öncesi ve sonrası değerlendirmesi yapılmış, hormon eksikliğinde azaldığı görülen CRP ve YKL-40 akut faz proteinlerinin tedavi sonrasında IL-6 ile birlikte arttığı gözlenmiştir (Andreassen ve ark., 2007).

Serum YKL-40, plazma IL-6 ve plazma vasküler endotelial büyüme faktörü seviyelerinin değerlendirildiği romatoid artrit hastalarında, sağlıklı bireylere kıyasla serum YKL-40, plazma IL-6 ve vasküler endotelial büyüme faktörü seviyelerinin arttığı bulunmuştur. Hasta bireyler tedavi edilmiş ve tedavi sonrasında bu medyatörlerin seviyesinde azalma meydana gelmiştir. Aynı zamanda tedavi sonrası IL-6 ve YKL-40 seviyeleri arasında korelasyon saptanmıştır (Knudsen ve ark., 2006). Bu çalışmayı destekler nitelikte, aktif romatoid artrit hastalığı olan bireylerde yapılan başka bir çalışmada da, serum YKL-40, plazma IL-6 ve plazma vasküler endotelial büyüme faktörü seviyelerinin sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve tedavi sonrası bu değerlerin düştüğü görülmüştür (Knudsen ve ark., 2009; Pedersen ve ark., 2010).

Kronik pankreatit ve tip 2 diabet hastalarında da sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında, YKL-40 ve IL-6 plazma seviyelerinin birbiriyle ilişkili bir şekilde arttığı rapor edilmiştir (Hansen ve ark., 2012). Bu bulgu da diğer bulguları destekler bir şekilde plazma YKL-40 seviyesinin düzenlenmesinde IL-6 sitokininin etkili olduğunu göstermektedir.

2.7. Akut Faz Proteinlerinin Salgılanmasını Düzenleyen Sitokinler

Sitokinler, inflamatuvar ve immün cevabın başlamasında ve devam etmesinde önemli rol oynayan, hücreler arasındaki iletişimi sağlayan çözünebilir proteinlerdir (Nibali ve ark., 2012). Aktive olmuş hücreler tarafından salgılanan sitokinler diğer medyatörlerle birlikte konakta oluşan her türlü lokal ve sistemik inflamatuvar cevabı yönlendirirler (Emingil, 2010). Primer savunma reaksiyonu olan akut faz cevabında önemli rol oynar ve vücudu mikroorganizma ürünlerine karşı korurlar. Sitokinler, akut faz proteinlerinin sentezini düzenleyerek bu proteinlerin salınımını uyarırlar (Becerik ve ark., 2012). Akut faz cevabını uyan bu sitokinler; IL-1, TNF- α , IL-6 ve IL-8 proinflamatuvar sitokinleridir.

IL-6, İnfeksiyon ve travmaya karşı sentezlenen multifonksiyonel bir sitokindir (Kishimoto ve ark., 1995). En yaygın olarak monosit/makrofajlar, fibroblastlar, epitel hücreleri ve endotelial hücreler gibi stromal hücreler tarafından sentez edilmektedir (Cox ve Gauldie, 1997). IL-6, antikor üretimi, T hücre aktivasyonu, B hücre farklılaşması ve akut faz proteinlerinin artışı, anjiyogenezisin uyarılması, vasküler permeabilite artışı ve osteoklast farklılaşması gibi birçok biyolojik olayı stimüle eder (Nibali ve ark., 2012). Hem antiinflamatuvar hem de proinflamatuvar özelliği olan IL-6, kronik inflamatuvar hastalıklarda akut faz proteinlerinin salınımını uyararak proinflamatuvar etkinlik gösterir (Schindler ve ark., 1990; Jones, 2001; Nibali ve ark., 2012). IL-6, IL-1 ve TNF- α ile ilişkili olup, bu üç sitokin birbirlerinin salgılanmasını tetiklerler (Hogarth ve ark., 1997). Ayrıca akut faz reaksiyonunu indükleyerek kan yoluyla vücudun diğer bölgelerine taşınabilirler.

IL-1 ve TNF- α gibi bir grup sitokini, büyüme faktörlerini, lipopolisakkaridleri, diğer bakteriyel ürünleri ve nöropeptidleri içeren medyatörler, IL-6 salgılanmasını stimüle ederler. Bakteriyel infeksiyonlara karşı IL-6'nın plazma seviyesi hızla artar ve infeksiyonun şiddetine ve süresine bağlı olarak artmış konsantrasyonunu korur (Czuprynski ve Haak-Frendscho, 1997).IL-6'nın, romatoid artrit ve sistemik lupus eritematosus gibi sistemik otoimmün hastalıklarda vücut sıvılarındaki seviyesinin yükseldiği gösterilmiştir (Cox ve Gauldie, 1997).

IL-6, IL-1 ve TNF- α sitokinlerinin periodonsiyumun inflamatuvar cevabında önemli rol oynadığı bilinmektedir (Howells, 1995; Graves and Cochran, 2003). İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda, IL-1 β , IL-2 ve IL-6 gibi sitokinlerin DOS'taki seviyesinin periodontal yıkımla orantılı olduğu rapor edilmiştir (Lee ve ark., 1995; Dutzan ve ark., 2009). Aynı zamanda periodontitisi olan bireylerde endotelial hücreler, fibroblast ve makrofajlarca IL-6 salgılandığı bildirilmiştir (Takahashi ve ark., 1994).

IL-6, periodontal hastalıkta en fazla çalışılmış inflamatuvar medyatörlerden biri olup, gingivitis ve periodontitisli hastaların DOS'unda ve inflame dişeti dokularında yükseldiği saptanmıştır (Mogi ve ark., 1999; Noh ve ark., 2013).

Yapılan klinik çalışmalarda, gingivitisli bireylerde DOS ve tükürük IL-6 seviyesinin arttığı gösterilmiştir (Becerik ve ark., 2010; Johansen ve ark., 2010). Ayrıca, periodontitis hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla IL-6 seviyesinin hem lokal (DOS ve tükürükte) hem de sistemik (serumda) olarak yükseldiği belirtilmiştir (Geivelis ve ark., 1993; Costa ve ark., 2010; Shimada ve ark., 2010).

Tip 1 diabeti olan hastalarda yapılan bir çalışmada serum IL-6 seviyesinin periodontal inflamasyon ile arttığı bulunmuş ve bu ilişkinin periodontal hastalık patogenezi ile periodontal hastalık-sistemik hastalık ilişkisinde önemli olduğu belirtilmiştir (Passoja ve ark., 2011).

Şiddetli periodontitisle ilişkili olarak serum IL-6 düzeyindeki artış, periodontal hastalıkların sistemik inflamatuvar cevaba katıldığı ve ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar gibi diğer sistemik durumların gelişmesine katkıda bulunduğunun bir göstergesidir (Loos ve ark., 2000; Mengel ve ark., 2002).

IL-6, lokal akut faz reaksiyonlarında önemli rol oynayan bir sitokindir (Whicher and Evans, 1990; Moshage, 1997; Emingil, 2010). Tip 2 akut faz proteinlerinin sentezi IL-6 tarafından düzenlenmektedir (Moshage, 1997; Ebersole ve Cappelli, 2000). Periodontal inflamasyon ile sistemik inflamasyon arasındaki söz konusu ilişki de akut faz proteinleri sentezinin uyarılarak inflamatuvar cevabın artışıyla meydana gelmektedir (Joshiyura ve ark., 2004).

Şiddetli periodontitise sahip hastalarda yapılan çalışmalarda serum IL-6 ve CRP seviyelerinin yükseldiği görülmüştür (D'Aiuto ve ark., 2004; Raunio ve ark., 2007). Aynı şekilde, periodontal hastalığı olan bireylere uygulanan periodontal tedavi ile inflamasyonun çözülmesine bağlı olarak IL-6 ve CRP seviyelerinin, tedavi öncesi seviyelerine göre azaldığı tespit edilmiştir (Marcaccini ve ark., 2009). Yapılan bu çalışmalara dayanarak, IL-6 sitokininin inflamasyona karşı oluşan akut faz cevabında, güvenilir bir akut faz proteini olan CRP sentezini uyardığı kabul görmektedir (Mendall ve ark., 1997; Ablj ve Meinders, 2002).

2.8. DOS

DOS, dişetin ekstrasellüler sıvısı olup dişetin epitel tabakasını geçerek dişeti oluğundan ağız içine akan, serumun tüm komponentlerini ve ayrıca PMNL hücrelerini içeren serum kaynaklı bir sıvıdır. DOS, içerisinde bulundurduğu plazma proteinleri ile diş etinin dişi daha sıkı kavramasına yardımcı olur, diş eti oluğunu yıkayarak temizler ve antibakteriyel bir etkiye sahiptir (Goodson, 2003). Ayrıca DOS, antibiyotikler gibi sirkülasyonda bulunan maddeleri ve konak kaynaklı antibakteriyel maddeleri dişeti oluğu bölgesine taşır.

DOS, saatte birkaç mikrolitre gibi düşük bir akış hızına sahiptir. Ağız boşluğuna günde 0,5-2.4 ml DOS akışı olur. DOS epitelyal hücreler arası boşluğa, oradan da diş eti oluğuna geçiş yapar (Griffiths, 2003). DOS hacminin ölçümü, sondalamada kanama ve renk, kıvam, kontur değişimi gibi subjektif ölçümlerin yanısıra iltihabın iyi bir erken belirleyicisi olabilir. DOS hacmi, gingivitis ve periodontitis gibi inflamatuvar periodontal hastalıklarda, sert gıdaların çiğnenmesi, dişeti masajı, oral kontraseptif ajanların kullanımı, ovülasyon, menstruasyon ve hamilelik durumlarında artmaktadır. Yapılan çalışmalarda, DOS hacminin inflamasyonun şiddeti ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir (Borden ve ark., 1977; Curtis ve ark., 1990).

DOS'un içeriği, diş yüzeyine tutunan bakteriler ile periodontal doku hücrelerinin arasındaki ilişkiye göre değişim gösterir. Bu nedenle periodontal hastalıkta konak-bakteri etkileşimlerinin ürünleri bu sıvıya geçerek eksuda halini almakta ve periodontal hastalık durumunda DOS içerisinde çeşitli enzimler, doku yıkım ürünleri, sitokinler ve kemokinler gibi çeşitli inflamatuvar medyatörler artmaktadır (Uitto, 2003; Chapple ve ark., 2007).

DOS, farklı hastalık gruplarındaki seviyesi ve içerdiği bileşenlerle periodontal sağlık, periodontal hastalık gelişimi ve konak savunması ile ilgili önemli bilgiler veren bir sıvıdır. DOS içerisinde biyokimyasal medyatörlerin bulunması ve seviyesindeki değişim, periodontal durumun teşhisi ve prognozu için önemlidir (Uitti, 2003). DOS içeriğinde özellikle enzimatik olayların saptanması periodontal hastalık aktivitesinin belirlenmesini sağlamaktadır. DOS, bu özelliklerinin yanı sıra, toplama yönteminin invaziv olmaması, kolay elde edilmesi ve örneklenen diş bölgesine özgün olması nedeniyle ilgili bölgedeki periodontal durumun saptanmasında en çok tercih edilen ve en güvenilir parametredir (Akpınar ve ark., 2002; Lamster ve Ahlo, 2007).

DOS'un toplanmasında, çeşitli teknikler kullanılabilir (Griffiths, 2003).

Bu teknikler;

- Gingival yıkama metodu
- Kapiller tüpler veya mikropipetler ile toplama
- Emici kağıt şeritler
- Dişeti oluğu içine yerleştirilen iplikler şeklindedir.

Filtre kağıt şeritlerle sıvının toplanması da metod olarak ikiye ayrılır;

1) İntrasulkuler teknik: Kağıt şeridin dişeti oluğu içerisine hafif direnç hissedilinceye kadar yerleştirildiği metottur.

2) Ekstrasulkuler teknik: Kağıt şeridin dişeti oluğunun sadece girişine yerleştirildiği metottur (Bulkacz ve Carranza, 2007).

2.9. Serum

Serum, sistemik dolaşımdan elde edilen kanın pıhtılaşmasını takiben santrifüj edilerek ayrıştırılmasıyla elde edilir. Pıhtılaşmayı önleyen bir antikoagülan madde üzerine alınan kan santrifüj edildiğinde ise şekilli elemanlar çöker ve plazma elde edilir. Bu nedenle, serum plazmadan farklı olarak, fibrinojen ve diğer bazı pıhtılaşma faktörlerini içermez (Guyton ve Hall, 2001).

Plazma veya serumda bulunan çeşitli biyokimyasal maddeler hastalıkların teşhisinde ve değerlendirilmesinde önemlidir. Ancak plazma ve serum genellikle benzer içerik ve özelliklere sahip olsalar da, birçok maddenin konsantrasyonu plazmada ve serumda farklılık göstermektedir (Miles ve ark., 2004; Liu ve ark., 2010). Bunun nedeninin plazma ve serum elde edilirken kan örneklerinin inkübasyon süresindeki farklılık olduğu düşünülmüş ve kan örneklerine uygulanan inkübasyonun biyokimyasal maddelerin serumdaki konsantrasyonunu plazmadaki konsantrasyonundan daha az etkilediği rapor edilmiştir. Bu nedenle çalışmalarda serumun kullanılması önerilmiştir (Liu ve ark.,2010).

Periodontal hastalıklarda DOS içerisinde saptanan ve seviyesi değişen biyolojik medyatörlerin serumda da saptanması ve seviyesinin değişmesi, periodontal hastalığın sistemik durumu etkilediğinin bir göstergesidir. Dünyada insanlarda en yaygın görülen kronik infeksiyon olan periodontal hastalık, ateroskleroz, miyokard infarktüsü gibi kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü haline gelmiştir (Khader ve ark., 2004; Seymour ve ark., 2007). Periodontal hastalıkların patogenezi

ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, romatoid artrit gibi çeşitli sistemik inflamatuvar hastalıklarla benzerlik göstermekte olup periodontal hastalık bu sistemik hastalıkların oluşumuna ve ilerlemesine katkıda bulunmaktadır (Kinane ve Marshall, 2001; Culshaw ve ark., 2011; Taylor ve ark.,2013). Günümüzde kronik periodontitisin düşük seviyedeki sistemik inflamasyon ile yakından ilişkili olduğu kabul edilmiştir (Loos, 2005; Nibali ve ark., 2007; Saxlin ve ark., 2009). Bu nedenle lokal bir inflamasyonla karakterize olan periodontal hastalık sistemik dolaşımı da etkileyebilmekte ve serumda CRP, fibrinojen ve IL-6 gibi inflamatuvar medyatörlerin seviyesi periodontal hastalık varlığıyla artış gösterebilmektedir (Kweider ve ark., 1993; Slade ve ark., 2000; Nakajima ve ark., 2010).

Bu nedenle periodontal hastalıkların etyopatogenezinde önem teşkil eden biyolojik medyatörleri araştırırken, hem DOS hem serumda değerlendirme yapılması periodontal hastalığın şiddeti, yayılımı ve oluşturduğu sistemik inflamatuvar cevap hakkında daha net bir bilgi sunacaktır.

YKL-40'ın serum ya da plazma konsantrasyonunun; romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalığı, tip 2 diyabet mellitus, koroner arter hastalığı, akut miyokard infarktüsü gibi inflamasyonla karakterize hastalığa sahip bireylerde, sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında artmış olduğu tespit edilmiştir (Roslind ve Johansen, 2009). Periodontal hastalık da kronik inflamatuvar bir hastalık olduğundan YKL-40 akut faz proteininin seviyesinin, bu hastalığın mevcudiyetinden de etkilenebileceği düşünülmektedir. Lokal inflamatuvar bir hastalık olan periodontal hastalığın sistemik olarak inflamasyon belirleyicilerini de etkilediği serum ya da plazmada yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak ulaşabildiğimiz ölçüde YKL-40 ile periodontal hastalık arasındaki olası ilişkiyi rapor eden herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Hipotezimiz, çeşitli kronik inflamatuvar hastalıklarda arttığı saptanmış olan YKL-40 akut faz proteini seviyesinin periodontal hastalık ile ilişkili olabileceğiydi.

Bu tez çalışmasının amacı, bir akut faz proteini olan YKL-40 ile kronik inflamatuvar bir hastalık olan periodontal hastalık arasındaki ilişkiyi incelemek ve periodontal hastalıkla ilişkili olduğu ve akut faz proteini sentezinde düzenleyici etkisi olduğu bilinen IL-6 proinflamatuvar sitokininde çalışmaya dahil edilerek araştırılmasıydı.

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmamıza Diş Hekimliği Fakültesi Oral Diagnoz ve Radyoloji Anabilim Dalı ile Periodontoloji Anabilim Dalı Kliniklerine başvuran, yaş aralığı 25-55 arasında değişen, diş sayısı >20 olan periodontal olarak sağlıklı bireyler (n:40) ile gingivitisli (n:40) ve şiddetli kronik periodontitisli (n:40) bireyler olmak üzere toplam 120 birey dahil edildi.Çalışmaya başlamadan önce Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Araştırma Etik Komisyonu tarafından gerekli etik kurul onayı alındı (Etik kurul karar no: 2011/360). Çalışmaya dahil edilecek bireylere çalışma ile ilgili bilgi verilerek,bilgilendirilmiş onam formu okutuldu ve imzalatıldı.

3.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

- 1) Sistemik olarak sağlıklı ve son 6 ay içinde herhangi bir ilaç kullanmamış,
- 2) Sigara alışkanlığı bulunmayan,
- 3) Son 6 ay içinde periodontal tedavi görmemiş ve
- 4) Mevcut diş sayısı 20'den fazla olan bireyler çalışmaya dahil edildi.

3.2. Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri

- 1) Sistemik hastalığı olan,
- 2) Son 6 ay içinde herhangi bir ilaç kullanmış olan bireyler,
- 3)Hamile ve laktasyon periyodunda olan bayanlar,
- 4) Sigara kullananlar,
- 5) Son 6 ay içinde periodontal tedavi görmüş olanlar,
- 6) 25 yaşın altında veya 55 yaşın üstünde olan bireyler ve
- 7) Gönüllü olur onayı vermeyenler çalışma kapsamı dışında bırakıldı.

3.3. Çalışma grupları

Yaş aralığı 25-55 arasında değişen, diş sayısı 20'den fazla olan120 birey periodontal sağlıklı kontrol grubu, klinik ve radyografik incelemeler

sonucundagingivitis ve kronik periodontitis teşhisi koyulan deney grupları şeklinde 3 eşit gruba ayrıldı.

3.3.1. Klinik ve Radyografik Değerlendirme

Bireyler klinik ve radyografik değerlendirmeye alınarak sondalanabilir cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), gingival indeks (Gİ)(Löe ve Silness,1963), plak indeksi (Pİ)(Silness ve Löe.,1964) değerlerine ve radyografik olarak tespit edilen kemik yıkımına göre gruplara ayrıldı. SCD, KAS,Gİ vePİ değerleri William's Sondası¹ (Hu-Friedy, Chicago, IL, A.B.D.) kullanılarak kaydedildi. Tüm klinik parametreler her dişin altı bölgesinden (mesio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mesio-lingual, mid-lingual ve disto-lingual) değerlendirildi. SCD, KAS, Gİ ve Pİ ortalamaları için önce her bir dişin altı yüzeyinden elde edilen değerler toplanıp ortalamaları alınarak bir dişin ortalaması; daha sonra bu değerler toplanıp ortalamaları alınarak da her bireyin tüm ağız SCD, KAS, Gİ ve Pİ ortalama değerleri elde edildi.

3.3.2. Teşhis

Yapılan klinik ve radyografik değerlendirmeler sonucunda: Sağlıklı Kontrol Grubu; GI=0 (klinik olarak gözlenebilen bir inflamasyon bulgusu yok), SCD \leq 3 mm, KAS=0 ve radyografik kemik yıkımı olmayan bireyleri tanımlarken(Seguir ve ark.,2000; Zheng ve ark., 2006) (Şekil 2), Gingivitis Grubu; GI \geq 2, SCD \leq 3 mm, periodontal cep, ataşman kaybı ve radyografik kemik yıkımı olmaksızın eritem, ödem gibi inflamasyon bulguları olan bireyleri (Lundy ve ark., 1999; Seguierve ark., 2000; Zheng ve ark., 2006;Bogren ve ark., 2007) (Şekil 3), Kronik Periodontitis Grubu ise; SCD \geq 4 mm, KAS \geq 5 mm, GI \geq 2 olan ve radyografik kemik yıkımı görülen bireyleri göstermektedir (Zheng ve ark., 2006) (Şekil 4). Gingivitis grubu için generalize diffüz gingivitisli, kronik periodontitis grubu için generalize şiddetli kronik periodontitisli bireyler seçildi.

¹ Hu-Friedy, Chicago, IL



Şekil 2. Periodontal olarak sağlıklı bireyin klinik ve radyografik görüntüsü



Şekil 3. Gingivitisli bireyin klinik ve radyografik görüntüsü



Şekil 4. Şiddetli kronik periodontitisli bireyin klinik ve radyografik görüntüsü

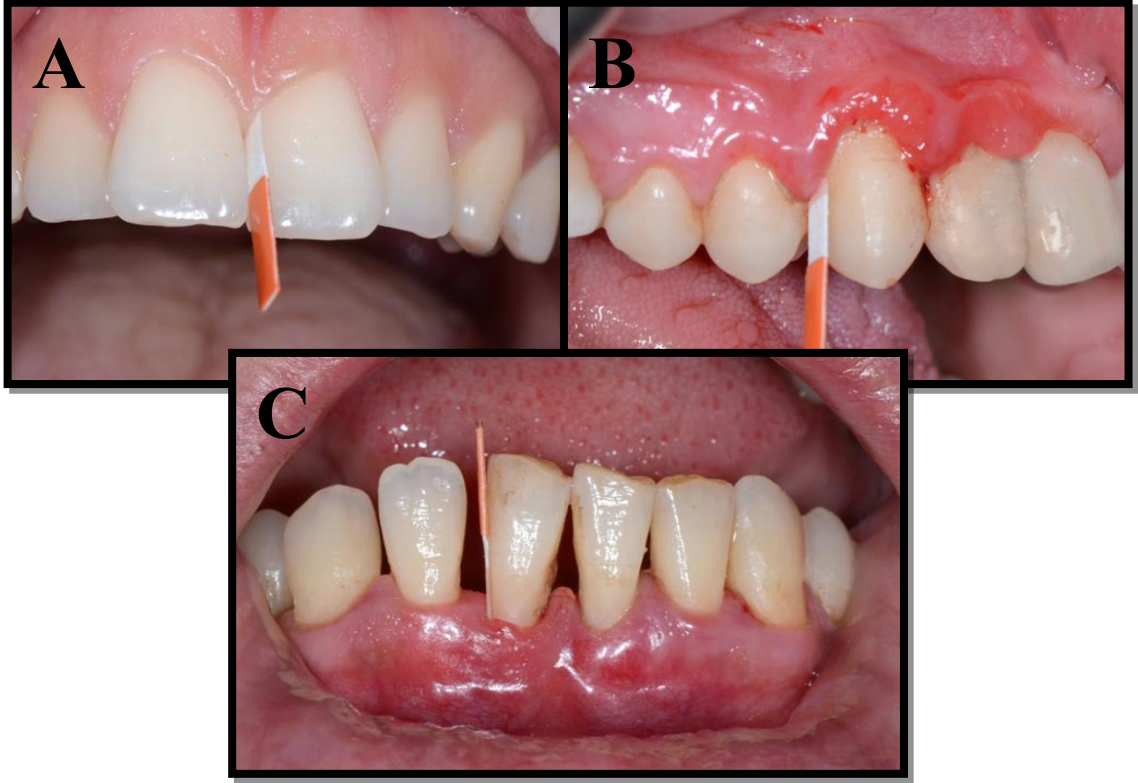
Klinik kayıtların alınması ve teşhisin konulmasından 1 gün sonra Enzyme-linked Immunosorbent Assay(ELISA) ile YKL-40 ve IL-6 değerlendirmeleri için aynı araştırmacı tarafından DOS ve kan örnekleri toplandı.

3.4. DOS Örneklerinin Toplanması

DOS örnekleri; gingivitisli bireylerde, klinik ataşman kaybı bulunmayan ve en fazla klinik inflamasyon bulguları gösteren, kronik periodontitisli bireylerde ise radyografik kemik kaybı ile berabersondalanabilir cep derinliğinin en yüksek olduğu ve en fazla inflamasyon bulgusu veren bölgelerden sabah saatlerinde toplandı (Şekil 5).

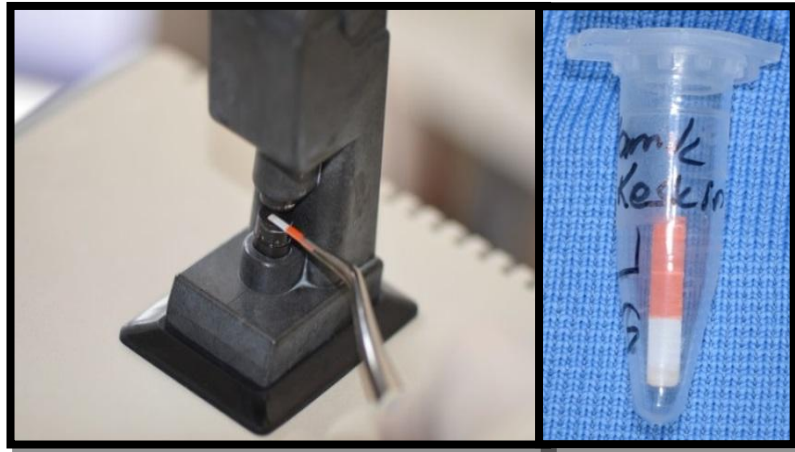
DOS örneği alınmadan önce; ilgili bölge pamuk rulo tamponlar ile izole edilerek, hava-su spreyi ile tükürük kontaminasyonu engellendi ve eğer varsa supragingival plak dişeti kenarına dokunmaksızın steril bir küret yardımıyla uzaklaştırıldı. DOS'un toplanmasında, boyutları ve emiciliği standart olan 2x14 mm ebatlarındaki kağıt şeritlerden² yararlanıldı. Özel kağıt şeritler, sulkus içerisine orta derecede bir direnç hissedinceye kadar yerleştirildi ve bu pozisyonda 30 sn beklenildi. Bu işlem sırasında tükürük ya da kan ile kontamine olan kağıt şeritler değerlendirilmedi.

² Periopaper, ProFlow, Inc., Amityville, NY



Şekil 5. Bireylerden DOS örneklerinin toplanması. A.Sağlıklı, B. Gingivitis, C. Kronik Periodontitis

Elde edilen DOS örneklerinin hacmi, önceden kalibre edilmiş olan Periotron 8000 cihazı³ ile ölçülerek kaydedildi (Şekil 6).



Şekil 6. Periotron 8000 cihazı ve ependorf tüpü içerisindeki DOS örneği

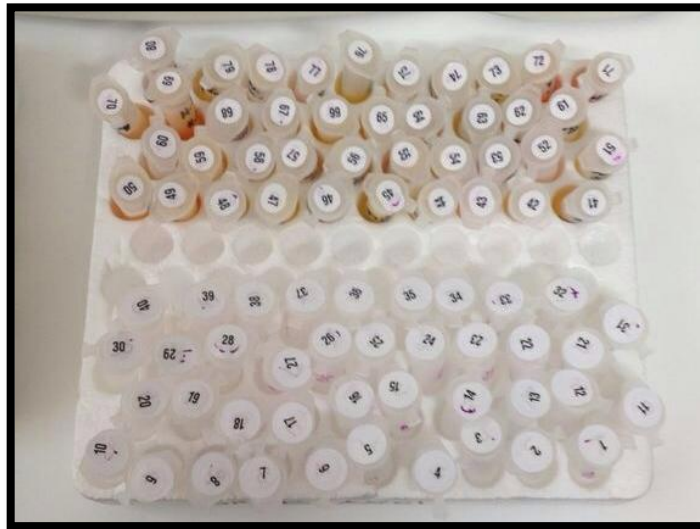
³ Periotron 8000, ProFlow Inc., Amityville, NY

Toplanan örnekler steril tüplere alınarak ELISA testi ile YKL-40 ve IL-6 analizi yapılabilmek üzere Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda -80°C'de saklandı.

Tüm DOS örneklerinin toplanmasını takiben DOS, kağıt şeritlerden izole edildi. İzolasyon işleminde içinde kağıt şeritlerin bulunduğu 400 µl'lik ependorf tüplerine, %2 sığır serum albümini içeren (pH=7.0) 100 µl fosfat tampon solüsyonu eklenerek 4 °C'de 60 dakika bekletildi. İnkübasyondan sonra tüpler ters çevrilerek çökelme sağlandıktan sonra tabanında küçük bir delik açıldı ve bu tüpler, 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine yerleştirilerek 4 °C'de 10.000 g'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Bu işlem 2 kez yapılarak 200 µl'lik DOS örnekleri elde edildi (Curtis ve ark., 1988). Elde edilen 200 µl DOS, her bir ependorf tüpünde 100 µl olmak üzere iki ayrı ependorf tüpüne paylaştırıldı.

3.5. Kan Örneklerinin Toplanması ve Serum Elde Edilmesi

DOS örneklerinin alınmasının ardından YKL-40 ve IL-6 serum seviyelerini değerlendirmek için bireylerden steril enjektörlerle antekubital fossadan yaklaşık 2 ml venöz kan örnekleri alındı. Alınan örnekler kan tüplerine aktarıldı. Toplanan örnekler laboratuvara alınarak 1000 g'de 15 dk süreyle santrifüj edildi ve serum kandan ayrıştırıldı. Ayrılan serum hemen steril plastik tüplere alınarak ELISA işlemine kadar -80°C'de saklandı.



Şekil 7. Biyokimyasal analiz için hazırlanmış DOS ve serum örnekleri

3.6. Biyokimyasal Analiz

DOS ve serum YKL-40 ve IL-6 düzeyleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında ELISA metodu ile YKL-40⁴ ve IL-6⁵ ticari kitleri kullanılarak belirlendi (Şekil 7).

3.6.1. Çalışma Çözeltilerinin Hazırlanması

YKL-40 Standartları: YKL-40 master standart, 1 ml standart dilüent ile karıştırılarak çözüldü ve oda ısısında 10 dk bekletildi. Master standart (800 ng/ml)'tan 1:4 oranında dilüsyon ile 200 ng/ml'lik standart(S1) elde edildi. Bu standarttan her biri 0,5 ml standart dilüent içeren tüplere bir önceki tüpten 0,5 ml alınarak seri dilüsyon uygulanmasıyla toplam 7 adet standart (S1-200 ng/ml, S2-100 ng/ml, S3-50 ng/ml, S4-25 ng/ml, S5-12.5 ng/ml, S6-6.25 ng/ml ve S7-3.12 ng/ml) hazırlandı.

IL-6 Standartları: IL-6 master standart, 1 ml standart dilüent ile karıştırılarak çözüldü ve oda ısısında 10 dk bekletildi. Master standart (10,000 pg/ml)'tan 1:10 oranında dilüsyon ile 1000 pg/ml'lik standart(S1) elde edildi. Bu standarttan her biri 0,5 ml standart dilüent içeren tüplere bir önceki tüpten 0,5 ml alınarak seri dilüsyon uygulanmasıyla toplam 7 adet standart (S1-1000 pg/ml, S2-500 pg/ml, S3-250 pg/ml, S4-125 pg/ml, S5-62,5 pg/ml, S6-31,2 pg/ml ve S7-15,6 pg/ml) hazırlandı.

Assay dilüent A ve Assay dilüent B: 6 ml Konsantre (2X) Assay Dilüent A ve B, 6 mL distile su ile çözüldü ve 12 ml Assay Dilüent A ve 12 ml Assay Dilüent B elde edildi.

Detection Reagent A ve Detection Reagent B: 100 µl Detection Reagent A ve 100 µl Detection Reagent B, 10 ml Assay Dilüent A ve B kullanılarak çözüldü(1:100 dilüsyon).

TMB Substrate: Kullanıma hazır.

Wash Buffer: 20 ml'lik Konsantre (30X) Wash Solüsyonu 580 ml ultra-pure su ile dilüe edilerek 600 ml yıkama solüsyonu hazırlandı (Şekil 8).

⁴ YKL40, Glycoprotein 39, Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit, E91463Hu, USCN Life Science Inc., Wuhan, China

⁵ IL6, Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit, E90079Hu, USCN Life Science Inc., Wuhan, China



Şekil 8. Çalışmada kullanılan YKL-40 solüsyonları

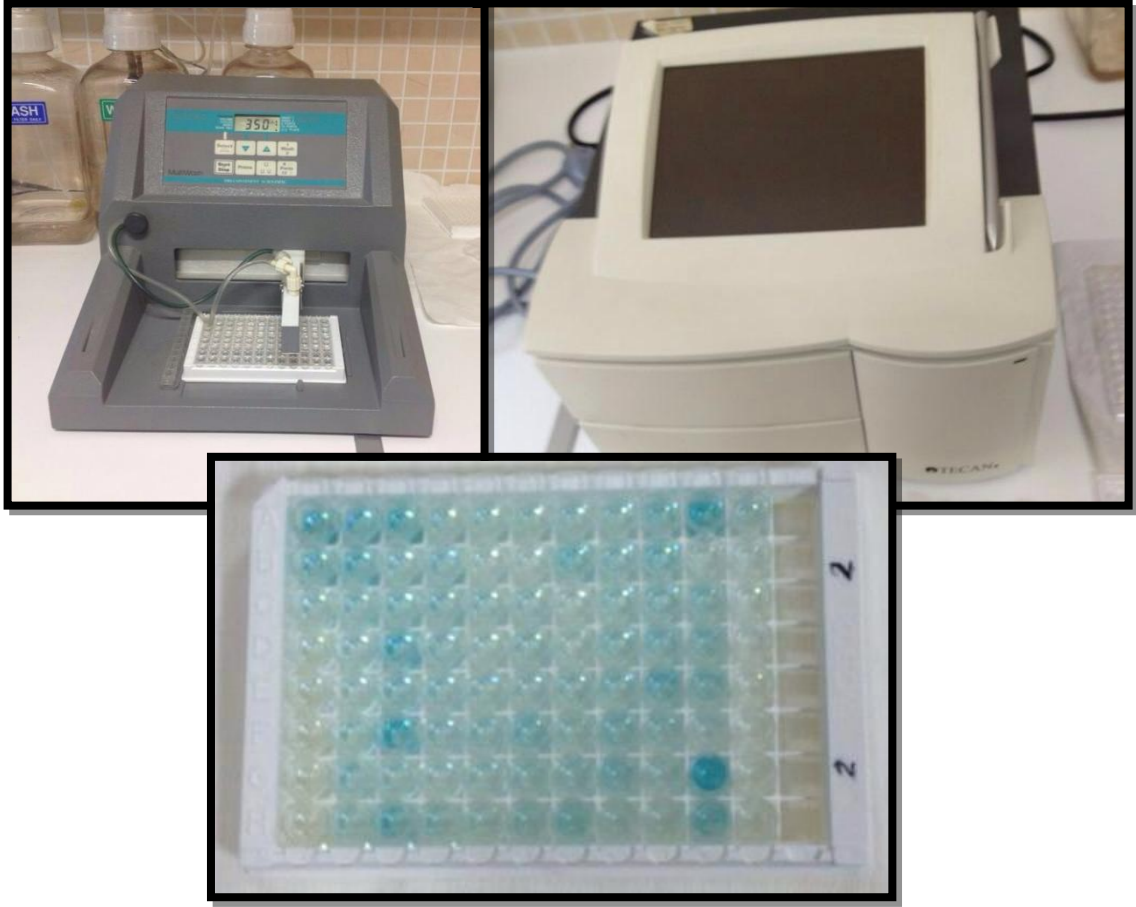
3.6.2. YKL-40 ve IL-6 Çalışma Prosedürü

Mikroplate kuyucukları Blank, S1-S7 standart kuyucukları için çift kuyucuklar belirlendi ve diğerleri N1-N80 örnek kuyucukları olarak ayrıldı.

Ticari kit prosedürüne uyularak mikroplate kuyucuklarına master standartın dilüsyonu ile elde edilen 7 standart örneği (S1-S7) uygun çift kuyucuğa 100 µl pipetlendi. Serum ve DOS örneklerimiz de her biri kendilerine ait kuyucuklara 100 µl olacak şekilde pipetlendi. Plate adheziv strip ile kapatılarak +37°C'de 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda plate'in her bir kuyucuğu otomatik mikroplate yıkayıcı ile (Bio-Tek) aspire edildi ancak yıkanmadı. Daha sonra her bir kuyucuğa 100 µl Detection Reagent A eklendi ve plate adheziv strip ile kapatılarak +37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda plate'in her bir kuyucuğu otomatik mikroplate yıkayıcı ile aspire edildi ve 350 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı ve bu işlem 3 kez tekrarlandı, plate absorbent kağıt ile kurulandı. Daha sonra her bir kuyucuğa 100 µl Detection Reagent B eklendi ve plate adheziv strip ile kapatılarak +37°C'de 30 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda plate'in her bir kuyucuğu otomatik mikroplate yıkayıcı ile aspire edildi ve 350 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı ve bu işlem 5 kez tekrarlandı, plate absorbent kağıt ile kurulandı. İşlem sonunda her bir kuyucuğa 90 µl Substrat Solution pipetlendi, yeni bir adheziv strip ile ışık görmeyecek şekilde kapatılarak +37°C'de 15-25 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra her bir

kuyucuğa 50 µl Stop Solution pipetlendi ve TECAN marka Mikroplate reader kullanılarak 450 nm dalga boyunda absorbanslar okundu (Şekil 9).

DOS ve serum YKL-40 ve IL-6 seviyeleri 7 adet standart değeri kullanılarak oluşturulan standart eğriye göre hesaplandı ve YKL-40 için ng/ml, IL-6 için pg/ml olarak ifade edildi. YKL-40 ve IL-6 için interassay CV % 12 ve intraassay CV % 10 olarak belirlendi.



Şekil 9. Yıkama ve Mikroplate okuma cihazı

3.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, 45 birimlik önemli fark, 70 birim standart sapma, %95 güven sınırı ve %80 güç için hasta sayısı her grup için 15 kişi olarak belirlendi. Verilerin değerlendirilmesinde istatistiksel analizler SPSS 15.0 Paket Veri Programı⁶ kullanılarak yapıldı. Normal dağılıma uygunluk gösteren verilerimizde gruplar arası karşılaştırmada

⁶ SPSS 15.0 Software Package Programme Inc., Chicago, IL

tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA), ikili karşılaştırmalarda gruplar arasındaki farklılığı ortaya koymak amacıyla Post Hoc Tuckey Parametrik Testleri kullanıldı. Nonparametrik kabul edilen verilerde Kruskal Wallis ve Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U Nonparametrik Testleri kullanıldı. Değişkenler arası korelasyonlar, Pearson ve Spearman Korelasyon Testleri ile değerlendirildi. P değerinin 0,05'ten küçük olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Normal dağılıma uygunluk gösteren veriler ortalama±standart sapma, nonparametrik veriler ise ortanca (minimum ve maksimum)ve ortalama±standart sapma olarak verildi.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 120 bireyin gruplara göre yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımları Tablo 1’de gösterildi. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($P>0,05$).

Tablo 1. Grupların yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımları

	Sağlıklı Kontrol	Gingivitis	Kronik Periodontitis
Yaş (Yıl)*	37,15± 6,38 38 (26-48)	37,33± 6,10 37,50 (25-49)	39,70± 7,39 40,50 (28-55)
Cinsiyet(Erkek: Kadın)*	20: 20	19: 21	22: 18

n=40 Veriler ortalama± standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum) olarak verildi

*Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark yok (One-Way ANOVA, Post Hoc Tuckey parametrik testler; $P>0,05$)

Çalışma gruplarında her dişin altı bölgesinden alınan klinik ölçümlerin ortalamaları hesaplanarak elde edilen tüm ağız klinik bulguları Tablo 2’de verildi. SCD, KAS, Gİ ve Pİ açısından 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($P=0,000$). Gİ değerlerinde, sağlıklı kontrol grubuyla periodontal hastalıklı gruplar arasında anlamlı fark bulunurken ($P=0,000$), gingivitis ve şiddetli kronik periodontitis grupları arasında istatistiksel anlamlı fark görülmedi ($P>0,05$) (Şekil 10).



Şekil 10. Bireylerin klinik bulguları A.Sağlıklı, B. Gingivitis, C. Kronik Periodontitis

Tablo 2. Çalışma gruplarının tüm ağız klinik bulguları

	Sağlıklı Kontrol	Gingivitis	Kronik Periodontitis
SCD (mm)^a	1,97±0,32	2,56±0,24	6,25±0,67
KAS (mm)^a	1,97±0,32	2,56±0,24	7,17±1,05
Gİ^a	0,38±0,14	2,45±0,26 ^b	2,45±0,39 ^b
Pİ^a	0,55±0,15	1,72±0,35	2,08±0,39

n=40 Veriler ortalama± standart sapma olarak verildi

^aGruplar arasında istatistiksel anlamlı fark var (One-Way ANOVA, Post Hoc Tuckey parametrik testler, P<0,001)

^bGruplar arasında istatistiksel anlamlı fark yok (One-Way ANOVA, Post Hoc Tuckey parametrik testler; P>0,05)

SCD: Sondalanabilir Cep Derinliği; KAS: Klinik Ataşman Seviyesi; Gİ: Gingival İndeks; Pİ: Plak İndeksi

Çalışma gruplarının örnekleme yapılan bölgelerine ait klinik indeks bulguları Tablo 3’de verildi. SCD, KAS, Gİ, Pİ ve DOS hacim değerlerinin gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi (P=0,000). Tüm ağız klinik bulgularını destekler şekilde, gingivitis ve şiddetli kronik periodontitisli bireyler arasında Gİ değerlerinin değerlerinin benzer olduğu ve istatistiksel anlamlı fark olmadığı saptandı (P>0,05). Pİ ve DOS hacim değerlerinin de periodontal hastalığı olan bireylerde sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak arttığı görülürken (P=0,000), gingivitis ve periodontitis grupları arasında istatistiksel olarak farklılık olmadığı bulundu (P>0,05).

Tablo 3.Çalışma gruplarında örneklem bölgelerine ait klinik bulgular

	Sağlıklı Kontrol	Gingivitis	Kronik Periodontitis
SCD (mm)^a	2 (1-3) 1,89±0,57	3 (2-3) 2,88±0,33	7,5 (5,5-10) 7,44±1,19
KAS (mm)^a	2 (1-3) 1,89±0,57	3 (2-3) 2,88±0,33	8 (6-12) 8,44±1,65
GI^a	0 (0-0) 0,00±0,00	3 (2-3) ^b 2,88±0,33	3 (2-3) ^b 2,75±0,44
PI^a	0 (0-1) 0,03±0,16	2 (1-3) ^b 1,80±0,72	2 (1-3) ^b 2,13±0,79
DOS Hacmi (µl)^c	0,30±0,09	0,72±0,14 ^d	0,77±0,14 ^d

n=40 Veriler ortalama± standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum) olarak verildi

^a Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark var (Kruskal Wallis, Bonferroni Düzeltmeli Mann-Whitney U nonparametrik testler, P<0,001)

^b Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark yok (Kruskal Wallis, Bonferroni Düzeltmeli Mann-Whitney U nonparametrik testler; P>0,05)

^c Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark var (One-Way ANOVA, Post Hoc Tuckey parametrik testler, P<0,001)

^d Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark yok (One-Way ANOVA, Post Hoc Tuckey parametrik testler; P>0,05)

SCD: Sondalanabilir Cep Derinliği; KAS: Klinik Ataşman Seviyesi; GI: Gingival İndeks; PI: Plak İndeksi; DOS Hacmi: Dişeti Oluğu Sıvısı Hacmi

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Periodontal olarak sağlıklı ve periodontal hastalığı olan bireylerin DOS ve serumdaki YKL-40 akut faz proteini ve IL-6 inflamasyon molekülü seviyeleri Tablo 4'te verildi.

DOS total YKL-40 miktarı ve serum YKL-40 seviyesinin periodontal hastalığı olan bireylerde sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı oranda arttığı bulundu (P=0,000). Bunun yanında, şiddetli kronik periodontitis grubunda gingivitis grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı olarak daha fazla yükseldiği saptandı (P=0,000).

DOS total IL-6 miktarı ve serum IL-6 seviyelerinin periodontal hastalığı olan bireylerde periodontal olarak sağlıklı bireylere göre istatistiksel anlamlı oranda arttığı tespit edildi (P=0,000). Gingivitis ve şiddetli kronik periodontitisli bireyler arasındaki

karşılaştırmada ise; DOS total IL-6 miktarının iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark göstermediği saptandı (P>0,05). Şiddetli kronik periodontitis hastalarında gingivitis hastaları ile karşılaştırıldığında serum IL-6 seviyesinin istatistiksel anlamlı oranda daha yüksek olduğu belirlendi (P=0,000).

Tablo 4. Çalışma gruplarındatotal DOS ve serum YKL-40 ve IL-6 seviyeleri

	Sağlıklı Kontrol	Gingivitis	Kronik Periodontitis
DOS YKL-40 (ng/örnek)^a	2,10±0,42	3,61±0,45	4,51±0,70
SERUM YKL-40 (ng/ml)^a	15,15±1,67	18,32±2,46	25,49±4,43
DOS IL-6 (pg/örnek)^a	5,21±1,10	18,55±4,25 ^b	18,61±2,54 ^b
SERUM IL-6 (pg/ml)^a	28,82±6,33	82,11±19,42	106,66±20,01

n=40Veriler ortalama± standart sapma olarak verildi

^a Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark var (One-Way ANOVA, Post Hoc Tuckey parametrik testler, P<0,001)

^bGruplar arasında istatistiksel anlamlı fark yok (One-Way ANOVA, Post Hoc Tuckey parametrik testler; P>0,05)

Klinik parametreler ile biyokimyasal bulgularımız arasında korelasyon olmadığı saptandı (P>0,05).

5. TARTIŞMA

Periodontal hastalıklar, mikrobiyal dental plağa bağlı olarak patojen mikroorganizmalar ve konak immün cevabı arasındaki etkileşimler sonucu ortaya çıkan inflamatuvar hastalıklardır (Emingil, 2010). Periodontal hastalığın başlaması ve ilerlemesinde mikroorganizmaların varlığı gereklidir ancak, hastalığa neden olabilmesi için duyarlı konak cevabı da olması gerekir. Konak, mikroorganizmaların salgıladığı ürünlere karşı sitokinler, kininler, prostaglandinler, MMP'ler, akut faz proteinleri gibi inflamatuvar medyatörleri üreterek ve kompleman sistemini aktive ederek cevap verir. Bu inflamatuvar medyatörlerin bir kısmı periodontal dokuların yıkımında yer alır ve periodontal hastalığıdaki yıkım miktarı ve şiddeti, inflamasyona karşı oluşan konak cevabının büyüklüğüne bağlıdır (De Nardin, 2001;Ishikawa, 2007).

Lokal inflamatuvar bir hastalık olan periodontal hastalıkta konak cevabına bağlı olarak çeşitli akut faz proteinlerinin seviyesinde artış olduğu gösterilmiştir. Akut faz cevabını düzenlediği bilinen sitokinlerin, periodontal hastalıkta ve çeşitli inflamatuvar hastalıklarda artarak akut faz proteinlerinin salgılanmasını uyardığı ve sistemik akut faz cevabı oluşturduğu belirtilmiştir (Ebersole ve Cappelli, 2000).

İnfeksiyona karşı serumda tespit edilen çeşitli inflamatuvar medyatörlerin DOS'ta da var olduğu ve periodontal hastalığın şiddetine bağlı olarak arttığı gösterilmiştir (Megson ve ark.,2010; Pejicic ve ark., 2011). Yapılan bir çalışmada; CRP, haptoglobin, fibrinojen ve IL-6'nın DOS'ta yükseldiği tespit edilmiştir. Aynı şekilde, IL-1 β , IL-8 ve TNF- α gibi sitokinlerin periodontitise sahip bireylerin dişetlerinde ve DOS'unda sağlıklı bireylere göre arttığı gösterilmiştir (Giannopoulou ve ark., 2011). Periodontal hastalığı ve koroner arter hastalığı olan bireylerle sadece periodontal hastalığı olan bireylerde DOS ve serum CRP seviyeleri incelenmiş ve serumda CRP düzeyinin her iki hastalık grubunda da sağlıklı bireylere göre önemli oranda arttığı rapor edilmiştir(Tüter ve ark., 2007). Yapılan çalışmalarda bir akut faz proteini olan CRP seviyesinin kronik inflamatuvar hastalıklar olan diabet, ateroskleroz ve periodontal hastalıkta arttığı rapor edilmiştir (Barbara ve ark., 2001; Noack ve ark., 2001; Pradhan ve ark., 2001; Moutsopoulos ve Madianos, 2006). Dolayısıyla, akut faz proteinlerinin seviyesi inflamatuvar hastalıklarda inflamasyon düzeyinin belirlenmesi ve hastalığın prognozunda bir belirleyici olarak kullanılabilir.

Yeni bulunmuş bir akut faz proteini olan YKL-40 çeşitli immün sistem hücreleri tarafından salgılanmaktadır ve hastalığa spesifik bir molekül değildir (Johansen, 2006). Yapılan araştırmalarda birçok inflamatuvar hastalıkta ve kanser hastalarında, YKL-40 serum ya da plazma konsantrasyonunun arttığı belirtilmiştir (Johansen ve ark., 2006; Johansen, 2006; Kastrup, 2011). Literatürde, periodontal hastalıklarda YKL-40 akut faz proteinin değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır.

Akut faz cevabında akut faz proteinlerinin sentezi sitokinler tarafından düzenlenmektedir. Akut faz cevabının düzenleyicileri olan IL-1 β , TNF- α ve IL-6 proinflamatuvar sitokinlerinin YKL-40 akut faz proteini seviyesi ile birlikte değerlendirildiği araştırmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda, YKL-40 proteini sentezini uyaran sitokinin, IL-6 olduğu düşünülmüştür (Johansen ve ark., 2001b; Biggar ve ark., 2008; Nielsen ve ark., 2011). Etyopatogenezi periodontal hastalıkla çok benzer olan romatoid artrit hastalığında yapılan çalışmalarda da YKL-40 proteini ile birlikte serum IL-6 seviyesinde de yükselme olduğu rapor edilmiştir (Knudsen ve ark., 2006; Knudsen ve ark., 2008; Knudsen ve ark., 2009). İnsan sinoviyal hücrelerinde yapılan bir araştırmada IL-1 β ve TNF- α 'nın YKL-40 sentezinde bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır (Nyirkos ve Golds, 1990). YKL-40 üretimini sağlayan ve uyaran medyatörleri tanımlamak amacıyla yapılan bir çalışmada, IL-1 β ve TNF- α 'nın YKL-40 salınımını inhibe ettiği, IL-6, IL-17 ve IL-18 sitokinlerinin de stimüle ettiği bildirilmiştir (Johansen ve ark., 2001b). Makrofajlar, lenfositler gibi çeşitli hücreler tarafından üretilen bir sitokin olan IL-6, konak immün sisteminde ve akut faz cevabında majör role sahiptir. Periodontal hastalıklarda yapılan çalışmalarda, DOS IL-6 seviyesinin hastalıkla birlikte artış gösterdiği (Hirose ve ark., 2001; Andriankaja ve ark., 1999; Becerik ve ark., 2010) ve periodontal hastalıkların sistemik olarak konak cevabını etkileyerek IL-6'nın serumda yükselmesine neden olduğu gösterilmiştir (Marcaccini ve ark., 2009; Shimada ve ark., 2010; Passoja ve ark., 2011). IL-6 sitokininin kronik lokal inflamatuvar hastalıklarda inflamasyonun en büyük düzenleyicisi ya da belirleyicisi olduğu da bilinmektedir (Romano ve ark., 1997). Literatürde, periodontal hastalıklarda YKL-40 molekülü seviyesini ve bu protein sentezinin düzenlemesinde rolü olabileceği düşünülen IL-6 sitokin düzeyini inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamız periodontal hastalık ve YKL-40 akut faz proteini arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışmadır. Çalışmamızda periodontal olarak sağlıklı, gingivitis ve şiddetli kronik periodontitis olmak üzere 3 grup oluşturularak DOS ve serumda YKL-40 ve IL-6 seviyelerinin değerlendirilmesi, karşılaştırılması ve aynı zamanda klinik parametreler ile olası korelasyonun araştırılması amaçlandı. Bu amaç doğrultusunda periodontal olarak sağlıklı, gingivitisli ve kronik periodontitisli 40'ar bireyden DOS ve serum örnekleri toplandı. DOS ve serumda tespit edilecek miktarların çeşitli faktörlerden etkilenme ihtimali göz önünde bulundurularak çalışmaya dahil edilme ve edilmeme kriterleri belirlendi.

Sağlıklı bireylerde yapılan bir araştırmada, YKL-40 molekülü serum seviyesinin yaşla birlikte arttığı ileri sürülmüştür (Johansen ve ark., 2008). Bunun yanında yaşın artmasına bağlı olarak dişeti epiteli keratinizasyonunda azalma, epitelin incilmesi, bakterilere karşı epitelyal geçirgenliğin artması ve direncin azalması gibi kümülatif etkilerin varlığı periodontal hastalığa olan eğilimi arttırmaktadır (Needleman, 2007). Bu faktörler göz önünde bulundurularak, çalışmamızın sonuçlarını etkilememesi açısından hasta grupları belirli bir yaş aralığında oluşturuldu ve çalışmamıza 55 yaşın üstünde olan bireyler dahil edilmedi. Dolayısıyla çalışma grupları arasındaki yaşlar benzerdi ve 3 grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Literatürde, cinsiyetin serum ya da plazma YKL-40 seviyesini etkilemediği rapor edilse de cinsiyetin YKL-40 ve IL-6 seviyeleri üzerine olan etkisi hemen hemen eşit sayıda kadın ve erkek bireyler seçilerek en aza indirildi (Johansen ve ark., 2008; Myding ve ark., 2011). Çalışmamıza dahil edilen bireylerin gruplara göre cinsiyet dağılımları dengeliydi ve gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak farklılık gözlenmedi.

Sigaranın periodontal hastalıklar için majör bir risk faktörü olduğu, periodontal hastalığın şiddeti, yayılımı ve prevalansını arttırdığı, konak inflamatuvar cevabı önemli derecede etkilediği, DOS'ta TNF- α ve PGE₂ salınımını ve kollajenaz aktivasyonunu artırarak inflamasyonu şiddetlendirdiği, buna rağmen DOS akış hızı ve hacminde azalmaya neden olduğu bilinmektedir (Novak ve Novak, 2007).

Multifaktöryel bir hastalık olan periodontal hastalıkların sistemik hastalıklarla olan ilişkisine bakıldığında, sistemik hastalıklar periodontal hastalığa olan eğilimi artırır ve hastalığın ilerleyişini hızlandırır. Bunu konak immün cevabında meydana getirdiği değişikliklerle yapmaktadır. Diabet gibi inflamatuvar hastalıkların periodontal hastalıklarla kombine edilip, tek başına periodontal hastalık grubuyla karşılaştırılarak yapıldığı çalışmalarda, IL-6 seviyesinin sistemik hastalık ile birlikte olan periodontal hastalık grubunda tek başına periodontal hastalığı olan bireylere göre anlamlı oranda daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Cole ve ark., 2008; Javed ve ark., 2012). Çalışma sonuçlarımızı etkileyecek bu faktörleri elimine etmek amacıyla sistemik hastalığı olan ve sigara kullanan bireyler çalışmamıza dahil edilmedi.

Periodontal hastalıklarda yaygın olarak kullanılan kemoterapötik ajanlar, bakterilere karşı oluşan konak immün cevabını değiştirir ve yıkımı azaltarak inflamasyonu ve kemik yıkımını baskılar (Jolkovsky ve Ciancio, 2007). Bu nedenle ilaç kullanan bireyler çalışmanın dışında bırakıldı.

Hamilelikte, anaerobik mikrofloranın artışı ve meydana gelen immün cevapta baskılanma, nötrofil kemotaksisinde azalma görülmektedir. Ayrıca, hamile kadınlarda östrojen ve progesteron konsantrasyonları artmakta ve buna bağlı olarak inflamatuvar cevap değişmektedir (Otomo-Corgel, 2007). İnflamatuvar cevabı değiştirmesi nedeniyle bulgularımızı etkileyeceğini düşündüğümüz hamile bireyler çalışmamıza dahil edilmedi.

Çalışmamızda mikrobiyal dental plak miktarını ve ağız hijyen durumunu saptamak amacıyla Pİ kullanıldı (Silness ve Løe.,1964). Pİ hastanın o andaki plak miktarını gösterir. İnflamasyonun ana bulgularından olan kanama, renk değişikliğive ödemi değerlendiren Gİ'tir. Bu nedenle çalışma gruplarındaki periodontal inflamasyonun durumunubelirlemek için Gİ kullanıldı (Løe ve Silness,1963). Modifiye Gİ, kanama varlığı ya da yokluğunu değerlendirmede kullandığımız periodontal sondalamayı içermemesi, yüzeydeki inflamasyon belirtilerini sadece çıplak gözle değerlendirme olanağı sağlaması nedeniyle diğer Gİ'e göre daha subjektif olduğu düşünüülerek tercih edilmedi (Lobene ve ark., 1986). SCD ve KAS, gingivitis ve periodontitisin teşhisindeve var olan kronik periodontitisin şiddetinin

değerlendirilmesinde kullanılan parametreler olduğundan hastalık seviyelerinin belirlenerek çalışma gruplarının oluşturulmasında kullanıldı.

DOS, periodonsiyumdaki konak hücrelerinin ürünlerini (sitokinler, antikorlar, enzimler), doku yıkım ürünlerini, serum kaynaklı molekülleri ve subgingival mikrobiyal ürünleri içermesi nedeniyle lokal inflamatuvar bir hastalık olan periodontal hastalığın lokaldurumunun saptanmasında önemli bir yere sahiptir. Yapılan çalışmalarda klinik ölçümlerin periodontal hastalığa yatkınlığı ve hastalık aktivitesini değerlendirmede, periodontal hastalığın o andaki durumu ile ilgili bilgi verdiği düşünülmüş, periodontal hastalığa yatkınlıkta ve hastalığın ilerlemesinde konak immün cevabındaki olayların değerlendirilmesi gerektiği, klinik ölçümlerin yetersiz kaldığı ortaya konmuştur (Özmeriç, 2004). Bu amaçla, yapılan pek çok çalışmada konak doku cevabında oluşan ürünleri içermesi nedeniyle periodontal dokularda meydana gelen biyokimyasal değişimleri incelemeye DOS kullanılmış ve DOS içeriği ve miktarının periodontal hastalıkla birlikte değiştiği pek çok çalışmada gösterilmiştir (Lamster ve Ahlo,2007; Becerik ve ark., 2012). Bunların yanısıra, invaziv olmayan bir yöntem olması nedeniyle de çalışmamızda DOS örnekleri kullanıldı.

Çalışmamızda klinik indekslerin alınması sırasında oluşan mekanik travma ve hastalıklı gruplarda inflamasyonun yüksek olmasına bağlı olarak sondalama sırasında oluşan kanama nedeniyle, DOS örnekleri klinik ölçümlerin yapılmasından 1 gün sonra alındı (Becerik ve ark., 2012). DOS örnekleri, standardizasyon açısından özel kağıt şeritler kullanılarak intrasulkuler metot ile 30 sn'de toplandı. Bu metot sıklıkla kullanılmakta ve aynı zamanda periotron ile DOS hacmini ölçme imkanı sağlamaktadır (Sanz ve ark., 2007). DOS örnekleri elde ederken süre, yeterli miktarda elde edilebilecek ve bölgede irritasyona neden olarak daha fazla DOS salınımı sağlamayacak uzunlukta olmalıdır. Bu amaçla bu süre birçok çalışmada 30 sn olarak belirlenmiştir (Becerik ve ark., 2012; Nibali ve ark., 2012). Ancak DOS toplama sırasında oluşabilecek kontaminasyon ve sulkuler epitelde oluşabilecek irritasyon bu metodun dezavantajıdır. Bunları engellemek için kağıt şeritler sulkus içine dikkatlice yerleştirildi. Kan ve tükürükle kontamine olan örnekler DOS hacim değerlerini ve ELISA sonuçlarını etkilememesi için değerlendirmeye alınmadı.

Yapılan çalışmalarda periodontal hastalıkların sistemik inflamasyonla yakından ilişkili olduğu, periodontal mikroorganizmalar ve konak yanıtı arasındaki etkileşimde akut faz proteinlerinin ve sitokinlerinin salınımını arttırarak sistemik inflamatuvar cevaba katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Becerik ve ark., 2012). Literatürde, periodontal hastalıklarda çeşitli akut faz proteinlerinin seviyesinin DOS ve serum ya da plazmada birlikte artış gösterdiği rapor edilmiştir (Slade ve ark., 2000; Ide ve ark., 2003; Pradeep ve ark., 2011). Periodontal hastalık lokal inflamatuvar bir hastalık olmasına rağmen sistemik dolaşımı da etkileyebileceği düşünülerek, çalışmamızda DOS ve serum birlikte değerlendirildi. Bu çalışmada DOS ve serumda YKL-40 ve IL-6 seviyeleri yüksek spesifik ve hassas bir metot olan ELISA ile tayin edildi.

Yapılan biyokimyasal analiz sonucunda elde edilen YKL-40 ve IL-6 seviyelerinin, 30 sn'de toplanarak elde edilen 200µl DOS'taki total miktarı ve konsantrasyonu hesaplandı. Ancak, periodontal hastalıkta klinik bulgu olarak DOS hacminin artması, incelenen sitokin ve proteinin DOS konsantrasyonunda azalmaya neden olmaktadır (Masada ve ark., 1990; Tsai ve ark., 1995). Periodontal hastalıklarda DOS içeriğinde meydana gelen değişimlerideğerlendirmede konsantrasyon yerine total miktarın daha anlamlı olması nedeniyle tez çalışmamızda DOS YKL-40 ve IL-6 bulgularıttotal miktar olarak verildi (Lamster ve ark., 1986; Becerik ve ark., 2012).

Genel olarak periodontal hastalığın teşhisi klinik ölçümler ve radyografik değerlendirmelerle yapılmaktadır. Periodontal hastalığın tipini ve derecesini belirleyerek gruplarımızı elde etmek için aldığımız klinik verilerimize bakıldığında; SCD, KAS, Gİ, Pİ ve DOS hacim değerleri gingivitis ve periodontitis grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı oranda yüksek bulundu. Ancak, tüm ağız ve örneklem bölgelerine ait olan ölçümlerde, gingivitis ve kronik periodontitis hastalarının Gİ ve DOS hacim değerleri benzerdi ve iki grup arasında bu parametreler açısından istatistiksel anlamlı fark yoktu. Bu bulgu,her iki hasta grubunda da inflamasyonun bulunduğunu göstermektedir.

Akut faz proteinleri ile periodontal hastalık arasındaki ilişki son yıllarda ortaya konmaya başlamıştır (Schwan ve ark., 2004;Buhlin ve ark., 2009; Megson ve ark., 2010). Yeni bir akut faz proteini olan YKL-40 ile periodontal hastalık arasındaki olası ilişkiyi saptamayı amaçladığımız çalışmamızda, YKL-40 incelemelerini DOS'ta ve

serumda gerçekleştirdik. Gingivitisli ve kronik periodontitisli bireylerde DOS ve serum YKL-40 seviyeleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulundu. Bu bulgu, YKL-40'ın değerlendirildiği inflamasyonla karakterize diğer hastalıklarda yapılan çalışmaların bulguları ile uyumludur (Peltomaa ve ark., 2001; Nielsen ve ark., 2008; Wang ve ark., 2008; Rathcke ve Vestegaard, 2009c; Kastrup ve ark., 2009; Kazakova ve ark., 2013). YKL-40 akut faz proteininin romatoid artritli bireylerde incelendiği çalışmalarda, YKL-40 sekresyonunda hastalığa bağlı olarak artış olduğu ve YKL-40 proteininin romatoid artrit hastalarında hastalık aktivitesinin bağımsız bir belirleyicisi olduğu ileri sürülmüştür (Johansen ve ark., 1999; Kazakova ve ark., 2013).Günümüzde romatoid artrit ve periodontal hastalıkların etyopatogenezi yakından ilişkili ve benzerdir (Culshaw ve ark., 2011). Periodontal hastalıklar insanlarda en sık görülen kronik enfeksiyondur (Tüter ve ark., 2007). Akut faz proteinlerinin periodontal inflamasyonun bir göstergesi olabileceğini gösteren birçok çalışma sonuçlarımızı desteklemektedir (Sahingur ve ark., 2003; Ide ve ark., 2003; Tüter ve ark., 2007; Vidal ve ark., 2009; Renvert ve ark., 2009; Fitzsimmons ve ark., 2010; Pradeep ve ark., 2011). Periodontal hastalıklarda YKL-40 akut faz proteini seviyesinin ilk kez değerlendirildiği bu çalışmada, DOS total YKL-40 miktarı ve serum YKL-40 seviyesinin kronik periodontitisli bireylerde gingivitisli bireylere göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü. Bu bulgu da YKL-40'ın aynı zamanda hastalığın şiddeti ile de ilişkili olabileceğini, hastalıkta oluşan doku yıkımının artışıyla orantılı olarak artabileceğini desteklemektedir.

Çalışmamızda, YKL-40 proteininin yanı sıra DOS IL-6 total miktarı ve serum IL-6 seviyelerinin gingivitis ve kronik periodontitis hastalarında sağlıklı bireylere göre arttığı tespit edildi. Gingivitis ve periodontitis hastalarında DOS ve dişeti dokusunda IL-6 seviyelerinin değerlendirildiği çalışmalarda, gingivitisli ve periodontitisli bireylerde DOS'taki ve dişeti dokusundaki IL-6 sitokin düzeyinin anlamlı olarak arttığı rapor edilmiştir (Takahashi ve ark., 1994; Johansen ve ark., 2010).Başka bir çalışmada, 25 gingivitisli ve 25 periodontal olarak sağlıklı bireyde DOS IL-6 düzeyi incelenmiş ve gingivitisli bireylerde sağlıklı bireylere göre DOS IL-6 seviyesinin arttığı bildirilmiştir(Becerik ve ark., 2010). Benzer şekilde, sistemik olarak sağlıklı periodontitis hastalarında serum IL-6 seviyesini değerlendiren klinik bir araştırmada, periodontitis grubunda serum IL-6 seviyesinin periodontal olarak sağlıklı gruba göre

yükseldiğibulunmuştur (Shimada ve ark., 2010). Yine, periodontal hastalığı olan 25 ve periodontal sağlıklı 20 bireyin periodontal tedavinin öncesinde ve tedavi sonrası 3. ayda serum ve plazma IL-6 seviyeleri yönünden değerlendirildiği başka bir çalışmada periodontal hastalık grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre serum ve plazma IL-6 seviyesinde artış olduğu, periodontal tedavi sonrası 3. ayda iyileşmeyle birlikte bu seviyenin azaldığı saptanmıştır (Marcaccini ve ark., 2009). Görüldüğü gibi IL-6 proinflamatuvar sitokini periodontal dokulardaki inflamasyona bağlı olarak artış gösterebilmekte olup, bu çalışmaların bulguları bizim bulgularımızla uyumludur. Bunların yanısıra, periodontal hastalığı olan bireylerde DOS ve dişeti dokusu IL-6 seviyesi yükselmekle birlikte serum ve plazma IL-6 seviyelerinin kontrol grubuna göre farklılık göstermediği de saptanmıştır (Takahashi ve ark., 1994; Becerik ve ark; 2012). Çalışmaların sonuçlarındaki farklılıklar; birey seçimi, birey sayısı, çalışma dizaynı ve metodu ile ilgili olabilir. Çalışmamızda DOS ve serum IL-6 seviyelerinin gingivitis ve kronik periodontitis gruplarında artış göstermesi hastalıklı gruplarımızdaki gingival inflamasyonun klinik bulgularını desteklemekte ve bu sitokinin periodontal inflamasyondaki rolünü daha net bir şekilde ortaya koymaktadır. Aynı zamanda bu bulgu, IL-6 sitokininin periodontal hastalıkta arttığını tespit ettiğimiz YKL-40 akut faz proteini üretimini uyarabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel anlamlı farklı olacak şekilde gingivitisli ve periodontitisli bireylerde yükselen DOS IL-6 seviyesinin, gingivitis ve periodontitise sahip bireyler arasında benzer olduğu saptandı. Ayrıca, klinik verilerimizde gingivitisli ve periodontitisli bireylerin Gİ skorları ve DOS hacim değerlerinin de birbirine benzer olması şiddetli kronik periodontitise sahip bireylerde gingival ve periodontal inflamasyonun birlikte bulunduğunu desteklemektedir. Bu bulgular, gingival ve periodontal inflamasyonun IL-6 DOS seviyesini benzer şekilde etkilediğini düşündürmektedir. DOS'ta sitokin seviyelerinin yükselmesi, sadece gingival inflamasyonla ilişkili olmayıp aynı zamanda kemik rezorpsiyonunun göstergesi de olabilir (Mogi ve ark., 1999).

Kronik periodontitisli bireylerde serum IL-6 seviyelerinin gingivitisli bireylerle karşılaştırıldığında daha yüksek olması; periodontal dokuların yıkımıyla karakterize

periodontitisin sistemik IL-6 üzerine etkisinin daha belirgin olduğunu düşündürmektedir.

YKL-40 akut faz proteini ile periodontal hastalık arasındaki ilişkiyi araştırdığımız kesitsel çalışmamızda, akut faz proteinlerinin sentezini düzenlediği ve periodontal hastalıkta doku yıkımında rol aldığı bilinen IL-6'yı da değerlendirmeye aldık. Klinik verilerimizle uyumlu olacak şekilde her iki medyatörün periodontal hastalıkta arttığı, çalışmamızın sınırları dahilinde YKL-40 akut faz proteininin periodontal hastalıkta doku yıkımıyla ilişkili olabileceği ve periodontal inflamasyon riski bulunan bireyleri belirlemede kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın sınırları dahilinde;

1. Periodontal hastalığı olan bireylerde sağlıklı bireylere göre DOS YKL-40 total miktarının istatistiksel anlamlı olarak arttığı tespit edildi. Bu bulgu YKL-40 akut faz proteininin periodontal hastalıkların etyopatogenezinde rolü olabileceğini düşündürmektedir.
2. DOS YKL-40 bulgularımızı destekler şekilde, periodontal hastalığı olan bireylerde serum YKL-40 seviyelerinin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı oranda arttığı saptandı. Bu bulgu periodontal hastalık varlığında YKL-40 akut faz proteininin sistemik inflamatuvar cevaba katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.
3. Kronik periodontitisli bireylerle gingivitisli bireyler karşılaştırıldığında, kronik periodontitis hastalarında DOS YKL-40 total miktarı ve serum YKL-40 seviyelerinin gingivitisli bireylerden istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulundu. Bu durum YKL-40 proteininin periodontal hastalığıdaki doku yıkım miktarından etkilendiğini göstermektedir.
4. Gingivitisli ve periodontitisli bireylerde periodontal olarak sağlıklı bireylere göre DOS IL-6 total miktarı ve serum IL-6 seviyelerinin anlamlı oranda daha yüksek olduğu belirlendi. IL-6 proinflamatuvar sitokinindeki bu artış, gingivitis ve periodontitis hastalarındaki inflamasyonu yansıtmakla birlikte, IL-6'nın YKL-40 akut faz proteini sentezini düzenlemede rolü olabileceğini düşündürmektedir.
5. Gingivitis ve kronik periodontitis hastalarının IL-6 seviyeleri karşılaştırıldığında; DOS IL-6 total miktarının iki hastalık grubu arasında farklılık göstermediği, serum IL-6 seviyesinin kronik periodontitis grubunda gingivitis grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edildi. DOS'taki bulgu, gingival ve periodontal inflamasyonun IL-6'yı benzer şekilde etkilediğini, serum bulgusu ise periodontal doku yıkımı ile karakterize periodontitisin sistemik IL-6 üzerine etkisinin daha belirgin olduğunu düşündürmektedir.
6. Bu çalışma, YKL-40 molekülü ile periodontal hastalık arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışmadır. Periodontal hastalıkların patogenezinde rolü olduğunu

düşündüğümüz YKL-40 akut faz proteini ve periodontal inflamasyon arasındaki ilişkiyi inceleyen ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. Bulgularımızın sınırları dahilinde, YKL-40 proteini periodontal hastalığa olan yatkınlığı belirlemede bir inflamasyon belirleyicisi olarak kullanılabilir. YKL-40 molekülü seviyesinde meydana gelen değişikliklerin periodontal inflamasyon riski taşıyan bireyleri tanımlayabileceği düşüncesindeyiz.

9. KAYNAKLAR

- Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2005;43:5721-5732.
- Abliz H, Meinders A. C-reactive protein- history and revival. *Eur J Intern Med.* 2002;13:412-422.
- Akpınar A, Marakoğlu İ. Dişeti oluşu sıvısı ve toplama yöntemleri. *CÜ Diş Hek Fak Derg.* 2002;5(1):45-48.
- Albandar JM, Brown LJ, Brunelle JA, Löe H. Gingival state and dental calculus in early-onset periodontitis. *J Periodontol.* 1996;67:953.
- Albandar JM, Tinoco EM. Global epidemiology of periodontal diseases in children and young persons. *Periodontol 2000.* 2002;29:153.
- Andreassen M, Vestergaard H, Kristensen LØ. Concentrations of the acute phase reactants high-sensitive C-reactive protein and YKL-40 and of interleukin-6 before and after treatment in patients with acromegaly and growth hormone deficiency. *Clinical Endocrinology.* 2007;67:909-916.
- Andriankaja OM, Barros SP, Moss K, Panagakos FS, DeVizio W, Beck J, Offenbacher S. Levels of Serum Interleukin (IL)-6 and Gingival Crevicular Fluid of IL-1b and Prostaglandin E2 Among Non-Smoking Subjects With Gingivitis and Type 2 Diabetes. *J Periodontol.* 2009;80:307-316.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999;4:1-6.
- Arvidsson NG, Gudbjörnsson B, Hällgren R, Larsson A. Concordant message of different inflammatory markers in patient with rheumatoid arthritis. *J Med Sci.* 1998;103(1):35-42.
- Ay M, Gürbilek M, Vatansev H. Akut faz proteinleri. *Genel Tıp Derg.* 1998;8(3):125-32.
- Barbara N, Robert JG, Maurizio T, Sara G, Joseph Z, Ernesto DN. Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. *J Periodontol.* 2001;72:1221-1227.
- Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. *Immunol Today.* 1994;15:74–80.
- Becerik S, Ozcaka O, Nalbantsoy A et al. Effects of menstrual cycle on periodontal health and gingival crevicular fluid markers. *J Periodontol.* 2010;81:673-681.

- Becerik S, Öztürk VÖ, Atmaca H, Atilla G, Emingil G. Gingival crevicular fluid and plasma acute-phase cytokine levels in different periodontal diseases. *J Periodontol* 2012;83(10):1304-1313.
- Berezow AB, Darveau RP. Microbial shift and periodontitis. *Periodontol* 2000. 2011;55:36-47.
- Biggar RJ, Johansen JS, Smedby KE, Rostgaard K, Chang ET, Adami HO, Glimelius B, Molin D, Hamilton-Dutoit S, Melbye M, Hjalgrim H. Serum YKL-40 and IL-6 Levels in Hodgkin Lymphoma. *Clin Cancer Res*. 2008;14(21):6974-6978.
- Bogaty P, Robitaille NM, Solymoss S, Boyer L, Auger D, Labbe L, Simard S, Rail J, Genest J Jr, Turgeon J. Atherogenic, haemostatic and other potential risk markers in subjects with previous isolated myocardial infarction compared with long-standing uncomplicated stable angina. *Am Heart J*. 1998;136:884-893.
- Bogren A, Teles R, Torresyap G, Haffajee AD, Socransky SS, Lindhe J, Wennström JL. A three-year prospective study of adult subjects with gingivitis, I: clinical periodontal parameters. *J Clin Periodontol*. 2007;34:1-6.
- Boot RG, van Achterberg TA, van Aken B.E. Strong induction of members of the chitinase family of proteins in atherosclerosis: chitotriosidase and human cartilage gp-39 expressed in lesion macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 1999;19(3):687-694.
- Boot RG, van Achterberg TA, van Aken BE, Renkema GH, Jacobs MJ, Aerts JM, de Vries CJ. Strong induction of members of the chitinase family of proteins in atherosclerosis: chitotriosidase and human cartilage gp-39 expressed in lesion macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:687-694.
- Booth V, Young S, Cruchley A, Taichman NS, Paleolog E. Vascular endothelial growth factor in human periodontal disease. *J Periodontal Res*. 1998;33(8):491-499.
- Borden SM, Golub LM, Kleinberg I. The effect of age and sex on the relationship between crevicular fluid flow and gingival inflammation in humans. *Journal of Periodontal Research*. 1977;12:160-165.
- Buhlin K, Hultin M, Norderyd O, Persson L, Pockley AG, Rabe P, Klinge B, Gustafsson A. Risk factors for atherosclerosis in cases with severe periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2009;36:541-549.
- Bulkacz J, Carranza FA. Defense mechanisms of the gingiva. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA editors. *Carranza's clinical periodontology*. 10th ed., Philadelphia, WB Saunders Company. 2007;343-354.

- Cairo F, Castellani S, Gori AM, Nieri M, Baldelli G, Abbate R, Pini-Prato GP. Severe periodontitis in young adults is associated with sub-clinical atherosclerosis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35:465-472.
- Castell JV, Gomez-Lechon MJ, David M, Fabra R, Trullenque R, Heinrich PC. Acute-phase response of human hepatocytes: regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6. *Hepatology*. 1990;12:1179-1186.
- Chapple IL, Brock GR, Milward MR, Ling N, Matthews JB. Compromised GCF total antioxidant capacity in periodontitis: cause or effect? *J Clin Periodontol*. 2007;34:103-110.
- Cole CM, Sundararaj KP, Leite RS, Nareika A, Slate EH, Sanders JJ, Lopes- Virella MF, Huang Y. A trend of increase in periodontal interleukin-6 expression across patients with neither diabetes nor periodontal disease, patients with periodontal disease alone, and patients with both diseases. *J Periodont Res*. 2008;43:717-722.
- Costa PP, Trevisan GL, Macedo GO, Palioto DB, Souza SL, Grisi MF, Novaes AB Jr, Taba M Jr. Salivary interleukin-6, matrix metalloproteinase-8, and osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes. *J Periodontol*. 2010;81:384-391.
- Cox G, Gauldie J. Interleukin-6. In: Remick DG, Friedland JS, ed. *Cytokines in health and disease*. New York: Marcel Dekker. 1997;81-100.
- Culshaw S, McInnes IB, Liew FY. What can the periodontal community learn from the pathophysiology of rheumatoid arthritis? *J Clin Periodontol*. 2011;38(11):106-113.
- Curtis MA, Griffiths GS, Price SJ, Coulthurst SK, Johnson NW. The total protein concentration of gingival crevicular fluid. Variation with sampling time and gingival inflammation. *J Clin Periodontol*. 1988;15:628-632.
- Curtis MA, Sterne JAC, Price SJ, Griffiths GS, Coulthurst SK, Wilton JMA, Johnson NW. The protein concentration of gingival crevicular fluid sampled from male adolescents with no destructive periodontitis: Baseline data of a longitudinal study. *J Periodontal Res*. 1990;25:6-16.
- Czuprynski CJ, Haak-Frendscho M. Cytokines in bacterial and fungal infections. In: Remick DG, Friedland JS, ed. *Cytokines in health and disease*. New York: Marcel Dekker. 1997;591-608.
- D'Aiuto F, Parkar M, Brett PM, Ready D, Tonetti MS. Gene polymorphisms in pro-inflammatory cytokines are associated with systemic inflammation in patients with severe periodontal infections. *Cytokine*. 2004;28:29-34.

- D'Armiento J, Dalal SS, Chada K. Tissue, temporal and inducible expression pattern of haptoglobin in mice. *Gene*. 1997;195:19-27.
- De Ceuninck F, Pastoureau P, Bouet F, Bonnet J, Vanhoutte PM. Purification of guinea pig YKL-40 and modulation of its secretion by cultured articular chondrocytes. *J Cell Biochem*. 1998;69:414-424.
- De Nardin E. The role of inflammatory and immunological mediators in periodontitis and cardiovascular disease. *Ann Periodontol*. 2001;6:30-40.
- Dennison DK, Van Dyke TE. The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease. *Periodontol* 2000. 1997;14:54-78.
- Dutzan N, Vernal R, Hernandez M, Dezerega A, Rivera O, Silva N, Aguillon JC, Puente J, Pozo P, Gamonal J. Levels of interferon-gamma and transcription factor T-bet in progressive periodontal lesions in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2009;80:290-296.
- Ebersole JL, Cappelli D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontol* 2000. 2000;23:19-49.
- Ebersole JL, Machen RL, Steffen MJ, Willmann DE. Systemic acute phase reactants, C-reactive protein and haptoglobin, in adult periodontitis. *Clin Exp Immunol*. 1997;107: 347-352.
- Ebersole JL, Singer RE, Steffensen B, Filloon T, Kornman KS. Inflammatory mediators and immunoglobulins in GCF from healthy, gingivitis, and periodontitis sites. *J Periodontal Res*. 1993;28:543-546.
- Ebersole JL. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontol* 2000. 2003;31:135-166.
- Emingil G. Periodontal hastalıkların patogenezi. In: Çağlayan G. editör. *Periodontoloji* 1. Baskı, Ankara, Hacettepe Üniv. Yayınları. 2010;124-169.
- Fiorellini JP, Kim DM, Ishikawa SO. Clinical features of gingivitis. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA editors. *Carranza's clinical periodontology*. 10th ed., Philadelphia, WB Saunders Company. 2006;362-372.
- Fitzsimmons TR, Sanders AE, Bartold PM, Slade GD. Local and systemic biomarkers in gingival crevicular fluid increase odds of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2010;37:30-36.
- Fitzsimmons TR, Sanders AE, Slade GD, Bartold PM. Biomarkers of periodontal inflammation in the Australian adult population. *Australian Dental Journal*. 2009;54:115-122.

- Flemmig TF. Periodontitis. *Ann Periodontol.* 1999;4:32.
- Fujihashi K, McGhee JR, Yamamoto M, Beagley KW, Kiyono H. Cytokine networks and immunoglobulin synthesis in inflamed gingival tissues. In: Genco R, ed. *Molecular pathogenesis of periodontal disease.* Washington, DC: Am Soc Microbiol. 1994;135-145.
- Geivelis M, Turner DW, Pederson ED, Lamberts BL. Measurements of interleukin-6 in gingival crevicular fluid from adults with destructive periodontal-disease. *J Periodontol.* 1993;64:980-983.
- Giannopoulou C, Cappuyns I, Cancela J, Cionca N, Mombelli A. Effect of Photodynamic Therapy, Diode Laser and Deep Scaling on Cytokine and Acute-Phase Protein Levels in Gingival Crevicular Fluid of Residual Periodontal Pockets. *Journal of Periodontol.* 2012;83(8):1018-1027.
- Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontology 2000.* 2003;31:43-54.
- Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2003;74:391-401.
- Greenstein G. Nonsurgical periodontal therapy in 2000. A literature review *JADA.* 2000;131:1580-1592.
- Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontology 2000.* 2003;31:32-42.
- Gruys E, Toussaint MJ, Niewold TA, Koopmans SJ. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2005;6(11):1045-56.
- Gungen G, Ardic F, Findikoğlu G, Rota S. The effect of mud pack therapy on serum YKL-40 and hsCRP levels in patients with knee osteoarthritis. *Rheumatol Int.* 2011;31:1-10.
- Guyton AC, Hall JE. *Medical physiology.* 10th Ed., Philadelphia, W.B Saunders Company. 2001;418-502.
- Hakala BE, White C, Recklies AD. Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family. *J Biol Chem.* 1993;268:25803-25810.
- Hansen M, Nielsen AR, Vilsbøll T, Lund A, Krarup T, Knop FK, Vestergaard H. Increased Levels of YKL-40 and Interleukin 6 in Patients with Chronic Pancreatitis and Secondary Diabetes. *Pancreas.* 2012;41:1316-1318.
- Hedegaard A, Sejersten RR, Johansen JS, Jorgensen E, Kastrup J. Plasma YKL-40 and recovery of left ventricular function after acute myocardial infarction. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2010;70(2):80-86.

- Henrissat B, Bairoch A. New families in the classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochem J.* 1993;293:781-788.
- Higashi Y, Goto C, Jitsuiki D, Umemura T, Nishioka K, Hidaka T, Takemoto H, Nakamura S, Soga J, Chayama K, Yoshizumi M, Taguchi A. Periodontal infection is associated with endothelial dysfunction in healthy subjects and hypertensive patients. *Hypertension.* 2008;51:446-453.
- Hirose M, Ishihara K, Saito A, Nakagawa T, Yamada S, Okuda K. Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. *J Periodontol.* 2001;72:590-597.
- Hogarth MB, Gallimore R, Savage P, Palmer AJ, Starr JM, Bullpitt CJ, Pepys MB. Acute phase proteins, C-reactive protein and serum amyloid A protein, as prognostic markers in the elderly inpatient. *Age Ageing.* 1997;26:153-158.
- Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Amanuma R, Yamazaki K. Balance of inflammatory response in stable gingivitis and progressive periodontitis lesions. *Clin Exp Immunol.* 2006;144:35-40.
- Howells GL. Cytokine networks in destructive periodontal disease. *Oral Dis.* 1995;1:266-270.
- <http://allergynotes.blogspot.com/2012/08/chitinase-3-like-1-protein-ykl-40.html>, 2013.
- Huang K, Wu LD. YKL-40: a Potential Biomarker for Osteoarthritis. *J Int Med Res.* 2009;37:18-24.
- Ide M, McPartlin D, Coward PY, Crook M, Lumb P, Wilson RF. Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. *J Clin Periodontol.* 2003;30:334-340.
- Ishihara Y, Nishihara T, Kuroyanagi T, Shirozu N, Yamagishi E, Ohguchi M, Koide M, Ueda N, Amano K, Noguchi T. Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. *J Periodontal Res.* 1997;32:524-529.
- Ishikawa I. Host responses in periodontal diseases: a preview. *Periodontol* 2000. 2007;43:9-13.
- Javed F, Al-Askar M, Al-Hezaimi K. Cytokine Profile in the Gingival Crevicular Fluid of Periodontitis Patients With and Without Type 2 Diabetes: A Literature Review. *J Periodontol.* 2012;83:156-161.

- Johansen JS, Hvolris J, Hansen M, Backer V, Lorenzen I, Price PA. Serum YKL-40 levels in healthy children and adults. Comparison with serum and synovial fluid levels of YKL-40 in patients with osteoarthritis or trauma of the knee joint. *Br J Rheumatol*. 1996;35:553-559.
- Johansen JS, Jensen BV, Roslind A, Nielsen D, Price PA. Serum YKL-40, a new prognostic biomarker in cancer patients? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15(2):194-202.
- Johansen JS, Jensen HS, Price PA. A new biochemical marker for joint injury. Analysis of YKL-40 in serum and synovial fluid. *Br J Rheumatol*. 1993;32:949-955.
- Johansen JS, Kirwan JR, Price PA, Sharif M. Serum YKL-40 concentrations in patients with early rheumatoid arthritis: relation to joint destruction. *Scand J Rheumatol*. 2001a;30:297-304.
- Johansen JS, Lottenburger T, Nielsen HJ. Diurnal, weekly, and long-time variation in serum concentrations of YKL-40 in healthy subjects. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*. 2008;17(10):2603-2608.
- Johansen JS, Olee T, Price PA, Hashimoto S, Ochs RL, Lotz M. Regulation of YKL-40 production by human articular chondrocytes. *Arthritis Rheum*. 2001b;44(4):826-837.
- Johansen JS, Stoltenberg M, Hansen M, Florescu A, Hørslev-Petersen K, Lorenzen I, Price PA. Serum YKL-40 concentrations in patients with rheumatoid arthritis: relation to disease activity. *Rheumatology*. 1999;38(7):618-626.
- Johansen JS, Williamson MK, Rice JS, Price PA. Identification of proteins secreted by human osteoblastic cells in culture. *J Bone Miner Res*. 1992;7:501-512.
- Johansen JS. Studies on serum YKL-40 as a biomarker in diseases with inflammation, tissue remodelling, fibrosis and cancer. *Dan Med Bull*. 2006;53:172-209.
- Johansson A, Bjurshammar N, Gustafsson A. The influence of academic stress on gingival inflammation. *Int J Dent Hyg*. 2010;8:22-27.
- Jolkovsky DL, Cianco S. Chemotherapeutic Agents. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA editors. *Carranza's clinical periodontology*. 10th ed., Philadelphia, WB Saunders Company. 2007;798-812.
- Jones KG, Brull DJ, Brown LC, Sian M, Greenhalgh RM, Humphries SE, Powell JT. Interleukin-6 (IL-6) and the prognosis of abdominal aortic aneurysms. *Circulation*. 2001;103:2260-2265.
- Joshiyura KJ, Wand HC, Merchant AT, Rimm EB. Periodontal disease and biomarkers related to cardiovascular disease. *J Dent Res*. 2004;83:151-155.

- Kastrup J, Johansen JS, Winkel PP. High serum YKL-40 concentration is associated with cardiovascular and all-cause mortality in patients with stable coronary artery disease. *Eur. Heart J.* 2009;30(9):1066-1072.
- Kazakova M, Batalov A, Deneva T, Mateva N, Kolarov Z, Sarafian V. Relationship between sonographic parameters and YKL-40 levels in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2013;33:341-346.
- Keles GC, Cetinkaya BO, Eroglu C, Simsek SB, Kahraman H. Vascular endothelial growth factor expression levels of gingiva in gingivitis and periodontitis patients with/without diabetes mellitus. *Inflamm Res.* 2010;59:543-549.
- Keles GC, Cetinkaya BO, Simsek SB, Köprülü D, Kahraman H. The role of periodontal disease on acute phase proteins in patients with coronary heart disease and diabetes. *Turk J Med Sci.* 2007;37:39-44.
- Khader YS, Albashaireh ZSM, Alomari MA. Periodontal diseases and the risk of coronary heart and cerebrovascular diseases: a meta-analysis. *J Periodontol.* 2004;75:1046-1153.
- Kim HM, Lee B, Song Y, Kim WJ, Chang H, Choi D, Yu HT, Kang E, Cha BS, Lee HC. Potential association between coronary artery disease and the inflammatory biomarker YKL-40 in asymptomatic patients with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovascular Diabetology.* 2012;11:84.
- Kinane DF, Adonogianaki E, Moughal N, Winstanley FP, Mooney J, Thornhill M. Immunocytochemical characterization of cellular infiltrate, related endothelial changes and determination of GCF acute-phase proteins during human experimental gingivitis. *J Periodontal Res.* 1991;26:286-288.
- Kinane DF, Marshall GJ. Periodontal manifestations of systemic disease. *Australian Dental Journal.* 2001;46(1):2-12.
- Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2001;25:8-20.
- Kirkwood KL, Nisengard RJ, Haake SK, Miyasaki KT. Immunity and Inflammation: Basic Concepts. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA editors. *Carranza's clinical periodontology.* 10th ed., Philadelphia, WB Saunders Company. 2007;209-227.
- Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and Gp130. *Blood.* 1995;86:1243-1254.
- Kjeldsen M, Holmstrup P, Bendtzen K. Marginal periodontitis and cytokines: a review of the literature. *J Periodontol.* 1993;64:1013-1022.

- Knudsen LS, Hetland ML, Johansen JS, Skjødt H, Peters DG, Colic A, Grau K, Nielsen HJ, Østergaard M. Changes in plasma IL-6, plasma VEGF and serum YKL-40 during treatment with Etanercept and Methotrexate or Etanercept alone in patients with active rheumatoid arthritis despite Methotrexate therapy. *Biomarker Insights*. 2009;4:91-95.
- Knudsen LS, Klarlund M, Skjødt H, Jensen T, Østergaard M, Jensen KE, Hansen MS, Hetland ML, Nielsen HJ, Johansen JS. Biomarkers of inflammation in patients with unclassified polyarthritis and early rheumatoid arthritis. Relationship to disease activity and radiographic outcome. *J Rheumatol*. 2008;35:1277-1287.
- Knudsen LS, Østergaard M, Baslund B, Narvestad E, Petersen J, Nielsen HJ, Ejbjerg BJ, Szkudlarek M, Johansen JS. Plasma IL-6, plasma VEGF, and serum YKL-40: relationship with disease activity and radiographic progression in rheumatoid arthritis patients treated with infliximab and methotrexate. *Scand J Rheumatol*. 2006;35:489-495.
- Koj A. Biological functions of acute-phase proteins. In: Gordon AH, Koj A, eds. *The Acute Phase Response to Injury and Infection*. Amsterdam: Elsevier. 1985; 145-160.
- Koj A. Initiation of acute phase response and synthesis of cytokines. *Biochim Biophys Acta*. 1996;1317:84-94.
- Kucur M, Isman FK, Karadag B, Vural VA, Tavsanoğlu S. Serum YKL-40 levels in patients with coronary artery disease. *Coron. Artery Dis*. 2007;18(5):391-396.
- Kushner I. C-reactive protein in rheumatology. *Arthritis Rheum*. 1991;34:1065-1068.
- Kushner I. The phenomenon of the acute phase response. *Ann NY Acad Sci* 1982;389: 39-48.
- Kweider M, Lowe G, Murray G, Kinane D, McGowan D. Dental disease, fibrinogen and white cell count: links with myocardial infarction? *Scott Med J*. 1993;38:73-74.
- Lagervall M, Jansson L, Bergström J. Systemic disorders in patients with periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 2003;30:293-299.
- Lamster IB, Ahlo JK. Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1098:216-29.
- Lamster IB, Oshrain RL, Gordon JM. Enzyme activity in human gingival crevicular fluid: Considerations in data reporting based on analysis of individual crevicular sites. *J Clin Periodontol*. 1986;13:799-804.
- Lamster IB. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Ann Periodontol*. 1997; 2(1): 123-137.

- Lee HJ, Kang IK, Chung CP, Choi SM. The subgingival microflora and gingival crevicular fluid cytokines in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1995;22:885-890.
- Lindhe J, Karring T, Araujo M. The anatomy of periodontal tissues. In: Lindhe J, Lang NP, Karring T, editors. *Clinical periodontology and implant dentistry.* 5th Ed., Munksgaard, a Blackwell Publishing company. 2008;3-49.
- Liu L, Aa J, Wang G, Yan B, Zhang Y, Wang X, Zhao C, Cao B, Shi J, Li M, Zheng T, Zheng Y, Hao G, Zhou F, Sun J. Differences in metabolite profile between blood plasma and serum. *Analytical Biochemistry.* 2010;406:105-112.
- Lobene RR, Weatherford T, Ross NM, Lamm RA, Menaker L. A modified gingival index for use in clinical trials. *Clin Prev Dent.* 1986;8(1):3-6.
- Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol.* 2000;71:1528-1534.
- Loos BG. Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol.* 2005;76:2106-2115.
- Löe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy I. prevalence and severity. *Acta Odontol Scand.* 1963;21:531-551.
- Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol.* 1965;36:177-187.
- Lundy FT, Shaw C, McKinnell J, Lamey PJ, Linden GJ. Calcitonin gene-related peptide in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *J Clin Periodontol.* 1999;26:212-216.
- Malinda KM, Ponce L, Kleinman HK, Shackelton LM, Millis AJT. Gp38k, a protein synthesized by vascular smooth muscle cells, stimulates directional migration of human umbilical vein endothelial cells. *Exp Cell Res.* 1999;250:168-173.
- Marcaccini AM, Meschiari CA, Sorgi CA, Saraiva MCP, de Souza AM, Faccioli LH, Tanus-Santos JE, Novaes Jr. AB, Gerlach RF. Circulating Interleukin-6 and High-Sensitivity C-Reactive Protein Decrease After Periodontal Therapy in Otherwise Healthy Subjects. *J Periodontol.* 2009;80:594-602.
- Mariotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. *Ann Periodontol.* 1999;4:7-19.
- Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1990;25:156-163.

- Mathiasen A, Henningsen KM, Harutyunyan M, Mygind N, Kastrup J. YKL-40 in cardiovascular medicine. *Biomark Med.* 2010;4:591-600.
- Mathiasen AB, Harutyunyan MJ, Jørgensen E, Helqvist S, Ripa R, Gøtze JP, Johansen JS, Kastrup J. Plasma YKL-40 in relation to the degree of coronary artery disease in patients with stable ischemic heart disease. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2011;71(5):439-447.
- Matilla KJ, Valle MS, Nieminen MS, Valtonen VV, Hietaniemi KL. Dental infections and coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1993;103:205-211.
- McArthur WP, Clark WB. Specific antibodies and their potential role in periodontal diseases. *J Periodontol.* 1993;64:807-818.
- Megson E, Fitzsimmons T, Dharmapatni K, Mark Bartold P. C-reactive protein in gingival crevicular fluid may be indicative of systemic inflammation. *J Clin Periodontol.* 2010;37(9):797-804.
- Mendall MA, Patel P, Asante M, Ballam L, Morris J, Strachan DP, Camm AJ, Northfield TC. Relation of serum cytokine concentrations to cardiovascular risk factors and coronary heart disease. *Heart.* 1997;78:273-277.
- Mengel R, Bacher M, Flores-De-Jacoby L. Interactions between stress, interleukin-1beta, interleukin-6 and cortisol in periodontally diseased patients. *J Clin Periodontol.* 2002;29:1012-1022.
- Michelsen AE, Rathcke CN, Skjelland M, Holm S, Ranheim T, Krohg-Sørensen K, Klingvall MF, Brosstad F, Oie E, Vestergaard H, Aukrust P, Halvorsen B. Increased YKL-40 expression in patients with carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2010;211:589-595.
- Miles RR, Roberts RF, Putnam AR, Roberts WL. Comparison of serum and heparinized plasma samples for measurement of chemistry analytes. *Clin Chem.* 2004;50:1704-1706.
- Mogi M, Otogoto J, Ota N, Inagaki H, Minami M, Kojima K. Interleukin 1 beta, interleukin 6, beta 2-microglobulin, and transforming growth factor alpha in gingival crevicular fluid from human periodontal disease. *Arch Oral Biol.* 1999;44:535-539.
- Moshage H. Cytokines and the hepatic acute phase response. *J Pathol.* 1997;181(3):257-266.
- Moutsopoulos NM, Madianos PN. Low-grade inflammation in chronic infectious diseases: Paradigm of Periodontal infections. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1088:251-264.

- Mygind ND, Harutyunyan MJ, Mathiasen AB, Ripa RS, Thune JJ, Gøtze JP, Johansen JS, Kastrup J; CLARICOR Trial Group. The influence of statin treatment on the inflammatory biomarkers YKL-40 and HsCRP in patients with stable coronary artery disease. *Inflamm Res*. 2011;60:281-287.
- Nakajima T, Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Ito H, Takahashi N, Maekawa T, Tabeta K, Yamazaki K. Periodontitis-associated up-regulation of systemic inflammatory mediator level may increase the risk of coronary heart disease. *J Periodont Res*. 2010;45:116-122.
- Needleman I. Aging and the Periodontium. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA editors. *Carranza's clinical periodontology*. 10th ed., Philadelphia, WB Saunders Company. 2007;93-98.
- Newman MG, Takei HH, Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology Middle East and Africa Edition*. 10th Ed., Philadelphia, W.B Saunders Company. 2007;99-208.
- Nibali L, D'Aiuto F, Griffiths G, Patel K, Suvan J, Tonetti MS. Severe periodontitis is associated with systemic inflammation and a dysmetabolic status: a case-control study. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007;34:931-937.
- Nibali L, Fedele S, D'Aiuto F, Donos N. Interleukin-6 in oral diseases: a review. *Oral Diseases*. 2012;18:236-243.
- Nielsen AR, Erikstrup C, Johansen JS, Fischer CP, Plomgaard P, Krogh-Madsen R, Taudorf S, Lindgaard B, Pedersen BK: Plasma YKL-40: a BMI-independent marker of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2008;57:3078-3082.
- Nielsen AR, Plomgaard P, Krabbe KS, Johansen JS, Pedersen BK. IL-6, but not TNF- α , increases plasma YKL-40 in human subjects. *Cytokine*. 2011;55:152-155.
- Nisengard RJ, Haake SK, Newman MG, Miyasaki KT. Immunity and Inflammation: Basic Concepts. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA editors. *Carranza's clinical periodontology*. 10th ed., Philadelphia, WB Saunders Company. 2007; 228-250.
- Noack B, Genco RJ, Trevisan M, Grossi S, Zambon JJ, De Nardin E. Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. *J Periodontol*. 2001;72:1221-1227.
- Noh MK, Jung M, Kim SH, Lee SR, Park KH, Kim DH, Kim HH, Park YG. Assessment of IL-6, IL-8 and TNF- α levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Experimental And Therapeutic Medicine*. 2013;6:847-851.
- Nojgaard C, Host NB, Christensen IJ. Serum levels of YKL-40 increases in patients with acute myocardial infarction. *Coron. Artery Dis*. 2008;19(4):257-263.

- Novak MJ, Novak KF. Smoking and Periodontal Disease. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA editors. Carranza's clinical periodontology. 10th ed., Philadelphia, WB Saunders Company. 2007;251-258.
- Nyirkos P, Golds EE. Human synovial cells secrete a 39 kDa protein similar to a bovine mammary protein expressed during the non-lactating period. *Biochem J.* 1990;268:265-268.
- Offenbacher S, Beck JD, Moss K, Mendoza L, Paquette DW, Barrow DA, Couper DJ, Stewart DD, Falkner KL, Graham SP, Grossi S, Gunsolley JC, Madden T, Maupome G, Trevisan M, Van Dyke TE, Genco RJ. Results from the Periodontitis and Vascular Events (PAVE) Study: a pilot multicentered, randomized, controlled trial to study effects of periodontal therapy in a secondary prevention model of cardiovascular disease. *Journal of Periodontology.* 2009;80:190-201.
- Otomo-Corgel Joan. Periodontal Therapy in the Female Patient. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA editors. Carranza's clinical periodontology. 10th ed., Philadelphia, WB Saunders Company. 2007;636-649.
- Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta.* 2004;343:1-16.
- Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1991;26:230-242.
- Paraskevas S, Huizinga JD, Loos BG. A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology.* 2008;35:277-290.
- Passoja A, Knuuttila M, Hiltunen L, Karttunen R, Niemela O, Raunio T, Vainio O, Hedberg P, Tervonen T. Serum IL-6 may modulate periodontal inflammation in type 1 diabetic subjects. *J Clin Periodontol.* 2011;38:687-693.
- Pedersen SJ, Hetland ML, Sørensen IJ, Østergaard M, Nielsen HJ, Johansen JS. Circulating levels of interleukin-6, vascular endothelial growth factor, YKL-40, matrix metalloproteinase-3, and total aggrecan in spondyloarthritis patients during 3 years of treatment with TNF α inhibitors. *Clin Rheumatol.* 2010;29:1301-1309.
- Pejcic A, Kesic LJ, Milasin J. C-reactive protein as a systemic marker of inflammation in periodontitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011;30(3):407-414.
- Peltomaa R, Paimela L, Harvey S, Helve T, Leirisalo-Repo M. Increased level of YKL-40 in sera from patients with early rheumatoid arthritis: a new biomarker for disease activity. *Rheumatol Int.* 2001;20:192-196.

- Persson F, Rathcke CN, Gall M, Parving H, Vestergaard H, Rossing P. High YKL-40 levels predict mortality in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2012;96:84-89.
- Pradeep AR, Kathariya R, Raghavendra NM, Sharma A. Levels of pentraxin-3 in gingival crevicular fluid and plasma in periodontal health and disease. *J Periodontol*. 2011;82(5):734-41.
- Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2001;286:327-334.
- Rathcke CN, Johansen JS, Vestergaard H: YKL-40, a biomarker of inflammation, is elevated in patients with type 2 diabetes and is related to insulin resistance. *Inflamm Res*. 2006a;55:53-59.
- Rathcke CN, Kjølner E, Fogh-Andersen N, Zerahn B, Vestergaard H. NT-proBNP and circulating inflammation markers in prediction of a normal myocardial scintigraphy in patients with symptoms of coronary artery disease. *PLoS One*. 2010;5(12):e14196.
- Rathcke CN, Persson F, Tarnow L, Rossing P, Vestergaard H: YKL- 40, a marker of inflammation and endothelial dysfunction, is elevated in patients with type 1 diabetes and increases with levels of albuminuria. *Diabetes Care*. 2009b; 32:323-328.
- Rathcke CN, Raymond I, Kistorp C, Hildebrandt P, Faber J, Vestergaard H. Low grade inflammation as measured by levels of YKL-40: association with an increased overall and cardiovascular mortality rate in an elderly population. *Int. J. Cardiol*. 2009a;143(1):35-42.
- Rathcke CN, Vestergaard H. YKL-40 - an emerging biomarker in cardiovascular disease and diabetes. *Cardiovascular Diabetology*. 2009c;8:1-61.
- Rathcke CN, Vestergaard H. YKL-40, a new inflammatory marker with relation to insulin resistance and with a role in endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Inflamm Res*. 2006b;55:221-227.
- Raunio T, Nixdorf M, Knuutila M, Karttunen R, Vainio O, Tervonen T. The extent of periodontal disease and the IL-6 -174 genotype as determinants of serum IL-6 levels. *J Clin Periodontol*. 2007;34:1025-1030.
- Raynes JG. The acute phase response. *Biochem Soc Trans*. 1994;22:69-74.
- Rehli M, Krause SW, Andreesen R. Molecular characterization of the gene for human cartilage gp-39 (CHI3L1), a member of the chitinase protein family and marker for late stages of macrophage differentiation. *Genomics*. 1997; 43:221-225.

- Rehli M, Niller H-H, Ammon C, Langmann S, Schwarzfischer L, Andreesen R, Krause SW. Transcriptional regulation of CHI3L1, a marker gene for late stages of macro- phage differentiation. *J Biol Chem.* 2003;278:44058-44067.
- Renvert S, Lindahl C, Roos-Jansåker AM, Lessem J. Short-term effects of an anti-inflammatory treatment on clinical parameters and serum levels of C-reactive protein and proinflammatory cytokines in subjects with periodontitis. *J Periodontol.* 2009;80(6):892-900.
- Romano M, Sironi M, Toniatti C, Polentarutti N, Fruscella P, Ghezzi P, Faggioni R, Luini W, van Hinsbergh V, Sozzani S, Bussolino F, Poli V, Ciliberto G, Mantovani A. Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment. *Immunity.* 1997;6:315-325.
- Rondbjerg A, Omerovic E, Vestergaard H. YKL-40 levels are independently associated with albuminuria in type 2. *Cardiovasc Diabetol.* 2011;10:54.
- Roslind A, Johansen JS. YKL-40: A Novel Marker Shared by Chronic Inflammation and Oncogenic Transformation. *Methods Mol Biol.* 2009;511:159-84.
- Sahingur SE, Cohen RE. Analysis of host responses and risk for disease progression. *Periodontol 2000.* 2004;34:57-83.
- Sahingur SE, Sharma A, Genco RJ, De Nardin E. Association of increased levels of fibrinogen and the -455G/A fibrinogen gene polymorphism with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2003;74:329-337.
- Sanz M, Newman MG, Quirynen M. Advances diagnostic techniques. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA editors. *Carranza's clinical periodontology.* 10th ed., Philadelphia, WB Saunders Company. 2007;579-601.
- Saxlin T, Suominen-Taipale L, Leiviska J, Jula A, Knuutila M, Ylöstalo P. Role of serum cytokines tumour necrosis factor-alpha and interleukin-6 in the association between body weight and periodontal infection. *Journal of Clinical Periodontology.* 2009;36:100-105.
- Schindler R, Mancilla J, Endres S, Ghorbani R, Clark SC, Dinarello CA. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human-blood mononuclear-cells – IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood.* 1990;75:40-47.
- Schultz DR, Arnold PI. Properties of four acute phase proteins: C-reactive protein, serum amyloid A protein, α 1-acid glycoprotein and fibrinogen. *Sem Arth Rheum.* 1990;20:129-47.

- Schwahn C, Völzke H, Robinson DM, Luedemann J, Bernhardt O, Gesch D, John U, Kocher T. Periodontal disease, but not edentulism, is independently associated with increased plasma fibrinogen levels. Results from a population-based study. *Thromb Haemost.* 2004;92:244-252.
- Seguier S, Godeau G, Brousse N. Collagen fibers and inflammatory cells in healthy and diseased human gingival tissues: a comparative and quantitative study by immunohistochemistry and automated image analysis. *J Periodontol.* 2000;71:1079-1085.
- Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, Yamazaki K. Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13(4):3-10.
- Seymour GJ, Gemmell E, Reinhardt RA, Eastcott J, Taubman, MA. Immunopathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: cellular and molecular mechanisms. *J Periodontal Res.* 1993;28:478-486.
- Shackelton LM, Mann DM, Millis AJT. Identification of a 38-kDa heparin binding glycoprotein (gp38k) in differentiating vascular smooth muscle cells as a member of a group of proteins associated with tissue remodeling. *J Biol Chem.* 1995;270:13076-13083.
- Shimada Y, Komatsu Y, Ikezawa-Suzuki I, Tai H, Sugita N, Yoshie H. The effect of periodontal treatment on serum leptin, interleukin-6, and C-reactive protein. *J Periodontol.* 2010;81:1118-1123.
- Silness J, Løe H. Periodontal disease in pregnancy. II. correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand.* 1964;22:121-135.
- Slade GD, Offenbacher S, Bexk JD, Heiss G, Pankow JS. Acute phase Inflammatory Response to Periodontal disease in the US population. *J Dent Res* 2000;79:49-57.
- Smalley JW. Pathogenic mechanisms in periodontal disease. *Adv Dent Res.* 1994;8:320-328.
- Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000. 2002;28:12-55.
- Steel DM, Whitehead AS. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunol Today.* 1994;15:81-87.
- Stokes DG, Liu G, Coimbra IB, Piera-Velazquez S, Crowl RM, Jimenez SA. Assessment of the gene expression profile of differentiated and dedifferentiated human fetal chondrocytes by microarray analysis. *Arthritis Rheum.* 2002;46:404-419.

- Sun X, Gulyas M, Hjerpe A. Mesothelial differentiation as reflected by differential gene expression. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2004;30:510-518.
- Takahashi K, Takashiba S, Nagai A, Takigawa M, Myoukai F, Kurihara H, Murayama Y. Assessment of interleukin-6 in the pathogenesis of periodontal-disease. *J Periodontol.* 1994;65:147-153.
- Tatakis DN, Kumar PS. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. *Dent Clin North Am.* 2005;49:491-516.
- Taylor JJ, Preshaw PM, Lalla E. A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Periodontol.* 2013;84(4):113-134.
- The American Academy of Periodontology. The pathogenesis of periodontal diseases. *J Periodontol.* 1999;70:457-470.
- Tonetti MS, Freiburghaus K, Lang NP, Bickel M. Detection of interleukin-8 and matrix metalloproteinases transcripts in healthy and diseased gingival biopsies by RNA/PCR. *J Periodontal Res.* 1993;28:511-513.
- Tsai CC, Ho YP, Chen CC. Levels of interleukin-1 beta and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J Periodontol.* 1995;66:852-859.
- Tuter G, Kurtis B, Serdar M. Evaluation of gingival crevicular fluid and serum levels of high-sensitivity C-reactive protein in chronic periodontitis patients with or without coronary artery disease. *J Periodontol.* 2007;78(12):2319-2324.
- Uitto VJ. Gingival crevice fluid-an introduction. *Periodontol 2000.* 2003;31:9-11.
- Vadas P, Grouix B, Stefanski E, Wloch M, Pruzanski W, Schroeder J, Gauldie J. Coordinate expression of group II phospholipase A2 and the acute-phase proteins haptoglobin (HP) and α 1-anti-chymotrypsin (ACH) by HepG2 cells. *Clin Exp Immunol.* 1997;108:175-180.
- Vidal F, Figueredo CMS, Cordovil I, Fischer RG. Periodontal therapy reduces plasma levels of interleukin-6, C-reactive protein, and fibrinogen in patients with severe periodontitis and refractory arterial hypertension. *J Periodontol.* 2009;80:786-791.
- Wang XQ, Wu MY, Luo ZH. Effect of beneficial mixture for body immune function on serum acute phase reaction protein levels in acute traumatic patients. *Chung Kuo Chung Hsi 1 Chieh Ho Tsa Chich.* 1996;16:724-726.
- Wang Y, Ripa RS, Johansen JS. YKL-40 a new biomarker in patients with acute coronary syndrome or stable coronary artery disease. *Scand. Cardiovasc. J.* 2008;42(5):295-302.

- Wewers MD. Cytokines and macrophages. In: Remick DG, Friedland JS, ed. Cytokines in health and disease. New York: Marcel Dekker. 1997:339-356.
- Whicher JT, Evans SW. Cytokines in disease. Clin Chem. 1990;36:1269-1281.
- Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei X-F, Achong MK. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. J Clin Invest. 1998;101:311-320.
- Yamazaki K, Yoshie H, Seymour GJ. T cell regulation of the immune response to infection in periodontal diseases. Histopathol. 2003;18:889-896.
- Zheng JL, Lu L, Hu J, Zhang RY, Zhang Q, Chen QJ, Shen WF. Increased serum YKL-40 and C-reactive protein levels are associated with angiographic lesion progression in patients with coronary artery disease. Atherosclerosis. 2010;210:590-595.
- Zheng P, Chen H, Shi S, Jepsen S, Eberhard J. Periodontal parameters and platelet-activating factor levels in serum and gingival crevicular fluid in a Chinese population. J Clin Periodontol. 2006;33:797-802.
- Zyvanovic S, Rackov LP, Vojvodic D, Vucetic D. Human cartilage glycoprotein 39-biomarker of joint damage in knee osteoarthritis. Int Orthop. 2009;33:1165-1170.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Zeynep Pınar KELEŞ

Doğum Yeri: Giresun

Doğum Tarihi: 14.05.1986

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 2004-2009

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D. Doktora 2010-

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 2012-

e-posta: zeynepinar14@hotmail.com

