

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

**DİYABETLİ VE SAĞLIKLI PERİODONTİTİSLİ
BİREYLERDE DİŞETİ İNDÜKLENEN NİTRİK OKSİT
SENTAZ SEVİYESİ İLE İNFLAMATUVAR CEVAP
İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Selcen Zeynep ODYAKMAZ

Samsun
Ocak 2010

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

**DİYABETLİ VE SAĞLIKLI PERİODONTİTİSLİ
BİREYLERDE DİŞETİ İNDÜKLENEN NİTRİK OKSİT
SENTAZ SEVİYESİ İLE İNFLAMATUVAR CEVAP
İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Selcen Zeynep ODYAKMAZ

Danışman: Doç. Dr. Elif Eser SAKALLIOĞLU

Samsun
Ocak 2010

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübesiyle, destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam, tez danışmanım sayın Doç. Dr. Elif Eser SAKALLIOĞLU'na,

Bizlere ihtiyaç duyduğumuz eğitim ve çalışma ortamını hiçbir fedakarlıktan kaçınmadan sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Gökhan AÇIKGÖZ'e,

Deney aşamalarındaki yardımlarından dolayı sayın Prof. Dr. Zafer EREN'e, sayın Yrd. Doç. Dr. Emine DRAMAN'a ve Moleküler Biyoloji Bölümü asistanlarına,

ELISA kitlerinin uygulanması aşamasındaki fedakarlıklarından dolayı sayın Prof. Dr. Murat HÖKELEK, Havva KOCAKAYA ve Mikrobiyoloji Bölümü asistanlarına,

Tezimin istatistiksel analizlerini gerçekleştiren sayın Prof. Dr. Tamer TÜRK'e ve istatistik konusundaki fikirlerini benimle paylaşan sayın Yrd. Doç. Dr. Müge LÜTFİOĞLU'na,

Sonsuz sabrı ve gülüyüzüyle manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim sayın Yrd. Doç. Dr. İnci DEVRİM'e,

İyi ve kötü günümde desteklerini benden esirgemeyen sayın Doç.Dr. Arzu ALKAN, sayın Yrd. Doç. Dr. Ayla ÖZTÜRK ve sayın Yrd. Doç. Dr. Murat Emin CANGER'e,

Dostlukları için, Dr. M. İnanç CENGİZ, Dr. Seda CENGİZ, Dr. Esengül E. İŞLER, Dr. Burçak ŞİMŞEK, Dt. Elif KONAŞ, Dt. Hanifi İPEK, Dt. Figen ÖNGÖZ, Dt. Umut BALLI, Dt. Duygu TOSUN'a,

Hasta toplama aşamasındaki emeği, sabrı ve ayrıca samimiyeti için klinik sekreterimiz Selamet Atlı'ya,

O.M.Ü Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D öğretim üyeleri ve asistanlarına,

Varlıklarıyla ne kadar şanslı olduğumu her an hissettiğim canım aileme ve tezimde emeği geçen herkese teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

DİYABETLİ VE SAĞLIKLI PERİODONTİTİSLİ BİREYLERDE DİŞETİ İNDÜKLENEBİLİR NİTRİK OKSİT SENTAZ SEVİYESİ İLE İNFLAMATUVAR CEVAP İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

Selcen Zeynep ODYAKMAZ, Doktora Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Ocak 2010

Diyabetli ve sistemik sağlıklı bireylerde indüklenabilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS) ve proinflamatuvar medyatörlerin seviyesinin, sağlıklı ve inflamasyonlu dişetlerinde kıyaslamalı olarak değerlendirilmesi ve diyabetin kontrol derecesi ile inflamatuvar olaylar arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlandı.

Çalışmamızın deney ve kontrol grubu, toplam 118 hastadan oluşturuldu. Çalışmamıza katılan bireyler, periodontal durum ve diyabetin metabolik kontrol durumlarına göre değerlendirilerek altı gruba ayrıldı.

Hastalarımızın yapışık dişeti bölgelerinden elde edilen diş eti biyopsilerinin homojenizasyonu sonucu elde edilen süpernatantlarında prostaglandin E₂ (PGE₂), interlökin 1 beta (IL-1 β), tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve interferon gamma (IFN- γ) seviyeleri ELISA testleri ile tespit edildi.

Kontrolsüz diyabetli ve periodontitisli örneklerdeki proinflamatuvar medyatörlerin seviyesi en yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Kontrollü diyabetli ve periodontitisli örneklerde IL-1 β dışında tüm medyatörler sağlıklı periodontitisli örneklerle benzer bulunmuştur ($p > 0,05$). Sağlıklı dokular değerlendirildiğinde ise kontrolsüz diyabetlilerin örneklerindeki değerler, sağlıklı bireylerle ve kontrollü diyabetlilerle benzer bulunmuştur ($p > 0,05$).

Çalışmamızda, metabolik kontrolü zayıf olan diyabetiklerde inflamatuvar yanıtın arttığı, metabolik kontrolü iyi olan diyabetiklerde ise sistemik sağlıklılarla benzer inflamatuvar yanıtın olduğu gözlemlendi.

ABSTRACT**THE EVALUATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN INFLAMMATORY RESPONSE AND THE GINGIVAL LEVELS OF INDUCIBLE NITRIC OXIDE SYNTHASE IN DIABETIC AND NON-DIABETIC PATIENTS WITH PERIODONTITIS**

Selcen Zeynep ODYAKMAZ, Doktora Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Ocak 2010

The purpose of our study is to evaluate the gingival tissue levels of inducible nitric oxide synthase (iNOS) between healthy and inflamed gingiva and to examine the relationship between inflammatory events and control degree of diabetes mellitus.

The study and control groups of our study are consisted of 118 patients totally. Participants were classified to six groups according to the evaluation of their periodontal status and metabolic conditions of diabetes mellitus.

The prostaglandin E2 (PGE₂), interleukin 1 beta (IL-1 β), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), inducible nitric oxide synthase (iNOS) ve interferron gamma (IFN- γ) ELISA tests were applied to the supernatants which achieved from homogenization of the gingival biopsies obtained from attached gingiva of our patients.

The levels of All proinflammatory mediators were highest in the patients with uncontrolled diabetes and periodontitis ($p < 0,05$). In well controlled diabetic patients with periodontitis, all mediators except IL-1 β had similar levels with patients who were sistemically healthy but have periodontitis ($p > 0,05$). In the evaluation of healthy tissues, the values of uncontrolled diabetic patients were found similar with both sistemically healthy patients and controlled diabetic patients ($p > 0,05$).

As a result of this study, the inflammatory response increases in patients with poor metabolic control but the inflammatory response of well controlled diabetics is similar with sistemically healthy participants.

SİMGELER ve KISALTMALAR

HbA1C	Hemoglobin A1C
GCF	Dişeti oluğu sıvısı
P.İ	Plak İndeksi
G.İ	Gingival İndeksi
PGE ₂	Prostaglandin E2
IL-1 β	İnterlökin-1 Beta
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör Alfa
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
IFN- γ	İnterferon Gamma
NO	Nitrik Oksit
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
eNOS	Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
EDRF	Endotelial Gevşetici Faktör
ARDS	Akut Respiratuvar Distres Sendromu
R-SNO	Nitrosotioller
ONOO-	Peroksinitrit
NO _x ⁻	Nitril
- SH	Tiol Grubu
T ₄ BPT	Tetrahidrobiopterinin
TGF- β	Transforme Edici Büyüme Faktör Beta
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
LPS	Lipopolisakkarit
IL-2	İnterlökin-2
IL-4	İnterlökin-4
IL-5	İnterlökin-5
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8
IL-10	İnterlökin-10

IL-12	İnterlökin-12
IL-13	İnterlökin-13
Th-1	T Yardımcı hücre-1
Th-2	T Yardımcı hücre-2
COX-2	Siklooksijenaz-2
NF κ B	Nükleer faktör κ B
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
TME	Tempora Mandibular Eklem
PLA ₂	Tip-2 fosfolipaz A ₂
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
AGE	Glikolizasyon son ürünü
RAGE	Glikolizasyon son ürünü reseptörü
IKK β	İnhibitör κ B kinaz β
MEG	Merkaptoetilguanidin

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
1. GİRİŞ	
2. GENEL BİLGİLER	
2.1. NO ve İNOS	3
Nitrik Oksitin Biyosentezi	4
İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz ve İmmun Yanıt	7
İnflamasyon koşullarında Nitrik Oksit Sentaz'ın Yeri	8
Matriks Bozunmasında İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz'ın Yeri	10
İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz ve Kemik Metabolizması	10
2.2. Periodontal Hastalık ve Sitokinler	12
Periodontal Hastalıkta NO ve iNOS'ın Yeri ve Sitokinlerle İlişkisi	16
2.3. Diabetes Mellitus'un Teşhisi, Genel Belirti ve Semptomları	18
Diabetes Mellitus'un Sistemik Komplikasyonları	20
Periodontal Hastalık ve Diabetes Mellitus İlişkisi	20
NO ve iNOS'ın TipII Diyabette Yeri ve Önemi	25
3. MATERYAL-METOD	
3.1. Birey	28
Diyabet ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi	29
3.2. Periodontal Değerlendirme	30
Periodontal Muayene Sırasında Yapılan Ölçümler	30
Periodontal Muayene Değerlendirme Kriterleri	30

3.3. Radyografik Değerlendirme	31
3.4. Dişeti Örneklerinin Toplanması	32
3.5. Diş eti Örneklerinin Homojenizasyonu	32
3.6. ELISA Kitlerinin Uygulanması	33
3.7. İstatik Analizleri	33
4. BULGULAR	
4.1. Klinik Bulgular	34
4.2. Dokulardaki IL-1 β, PGE₂, TNF-α, IFN-γ ve iNOS konsantrasyon seviyelerine ait bulgular	35
5. TARTIşMA	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	58
7. KAYNAKLAR	60
EK-1 (Etik Kurul Onay Belgesi)	77
ÖZGEÇMİş	78

1. GİRİŞ

Nitrik oksit (NO), Nitrik oksit sentaz (NOS) izoform ailesi tarafından enzimatik olarak L-arginin'den üretilen, biyolojik yarılanma ömrü kısa olan, gaz şeklinde serbest bir radikaldir. NO vücutta her bölgede bulunan bir üründür ve pek çok fizyolojik fonksiyonla ilişkilidir. Bu fonksiyonlar arasında trombosit agregasyonu, nöral iletim, doku yıkımı ve mikroorganizmaların ölümüne neden olan güçlü oksidatif aktivite sayılabilir. NO sentaz'ın üç farklı izoformu tanımlanır: nöronal NOS (nNOS), endotelial NOS (eNOS) ve indüklenebilir NOS (iNOS). nNOS ve eNOS izoformları temel olarak santral ve periferel nöral sistemde ve endotelde baskındır (Daghigh ve ark., 2003). Bununla beraber iNOS izoformu, sağlıklı dokularda bulunur, ancak bakteriyel lipopolisakkarit gibi proinflamatuvar stimuluslara yanıt olarak hızla sentezlenir ve bol miktarda NO üretir (Gaspirc ve ark., 2002). iNOS'un son ürünü olan NO, infeksiyonda ve inflamatuvar yanıtta olmak üzere iki role sahiptir: Düşük miktarlarda salgılandığında konak savunma mekanizmasında ana medyatör, uyarılar sonucu salgısı arttığında ise konak doku yıkımı patogenezinde önemli bir ajan olarak görev yapar ve inflamatuvar reaksiyon boyunca lokal doku yıkımını destekler. iNOS'ın fizyolojik inhibisyonu, plazma ekstravazasyonu ve kemik destrüksiyonunu azaltır (Leitao ve ark., 2005; Nagareddy ve ark., 2005). Periodontitis, dişin çevresel dokularını etkileyen ve bu çevre dokularda yıkımlara neden olan multifaktöryel bir inflamatuvar hastalıktır. Son yıllarda yapılmış olan çalışmalarda periodontitis sonucu oluşan doku yıkım patogenezinde NO seviyesinin önemi vurgulanmış ve periodontitis varlığında NO seviyesinin artmış olduğu gösterilmiştir (Chen ve ark., 2000; Aurer ve ark., 2001; Batista ve ark., 2002). Diyabet, periodontitis açısından bir risk faktörü olarak bilinmektedir ve aynı zamanda periodontitis, diyabetin 6. komplikasyonu olarak kabul edilmiştir (Loe, 1993). Diyabetle periodontal hastalık arasındaki bu sıkı ilişkinin mekanizması yıllardır bir çok çalışmanın ilgi alanı olmuştur. Diyabetli bireylerde, inflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , TNF α , PGE2) salınımı, diyabetik olmayan bireylere göre daha fazladır ve bu inflamatuvar sitokinler doku yıkımında görev almaktadırlar (Nagareddy ve ark., 2005). Endotoksinler ve Tümör nekrozis faktör alfa (TNF α), iterferon gamma (IFN γ) gibi bu proinflamatuvar sitokinler de NO için güçlü indükleyicidirler fakat NO sentezinin hangi aşamasını etkiledikleri henüz aydınlatılamamıştır (Chen ve ark., 2000). Bu bilgiler ışığında, iNOS enzimi ile ilgili yapılan çalışmalara katkıda bulunmak amacıyla çalışmamızda (i)

periodontal hastalıkta rol oynadığı gösterilmiş olan iNOS enziminin periodontal hastalık için bir risk faktörü olan diyabetli bireylerin periodontal dokularındaki miktarını (ii) inflamatuvar sitokinlerin ve iNOS enziminin kontrol edilen ve kontrol edilemeyen diyabetli bireyler ve sağlıklı bireyler arasında bir farklılık gösterip göstermediği araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. NO ve iNOS

Nitrik Oksit (NO), yeryüzünde, soğumakta olan gezegenin ilkel atmosferinde üretilen en eski moleküllerden biri olarak kabul edilmektedir. NO, serbest bir radikaldir ve çift olmayan elektronlara sahip yüksüz bir moleküldür (Kendall ve ark., 2000). NO ilk olarak Belçikalı bilim adamı Jan Baptista van Helmont (1577 – 1644) tarafından 1610 yılında laboratuvar ortamında sentezlenmiştir. 1772 yılında Joseph Priestly (1733 – 1804), bu gaza “nitroz hava“ ismini vermiştir ve bu gazın bitki hayatı ile ilgili olmadığını etteki putrefaksiyonu azaltarak açığa çıktığını belirtmiştir. 1980 li yılların başlarında, NO’ in bakterisidal ajan olarak etkisi gündeme gelmiştir fakat bu durum 1987 yılında NO’ in, vasküler tonusun düzenlenmesinde endotelial gevşetici faktör (EDRF) ün fonksiyonlarından sorumlu bir kimyasal olduğunun keşfedilmesiyle sona ermiştir (Ignarro ve ark., 1987). Bu bulguları takiben, NO araştırmaları katlanarak artmıştır ve pek çok bilimsel komite tarafından 20. yüzyılın en büyük buluşlarından biri olarak kabul görmüştür. Bu kabulden sonra bu alanda çalışma yapan araştırmacılardan ikisi Nobel ödülü almışlardır ve 1992 yılında Journal of Science tarafından NO, yılın molekülü olarak tanımlanmıştır (Brennan, 2003).

Başlangıçta yapılan çalışmalarda NO’in vasküler tonusun düzenlenmesindeki etkileri üzerine yoğunlaşmış olsa da ileri yıllarda NO’in, hem fizyolojik hem de patolojik olaylar zincirinde pek çok farklı mekanizma içinde farklı görevlerde bulunduğu fark edilmiştir. Ancak bu prosedürlerin bir kısmı hala tam olarak anlaşılmış değildir. NO’ in, hipertansiyon, hipotansiyon, trombo-embolik hastalıklar, septik şok, bronkospazm, akut respiratuvar distres sendromu (ARDS), pulmoner hipertansiyon, böbrek yetmezliği, immun bozukluk, HIV’ e bağlı ensefalopati, depresyon, iktidarsızlık, malignite gibi pek çok medikal durumda rol oynadığı bilinmektedir. (Brennan, 2003).

NO, dokuların patofizyolojisinde hem yararlı hem de zararlı etkilere sahiptir, pek çok dokuda intrasellüler ve ekstrasellüler olaylarda geniş bir spektrumda etkilidir (Kendall ve ark., 2001). NO, konak defansı ve hemostazında önemli bir molekül

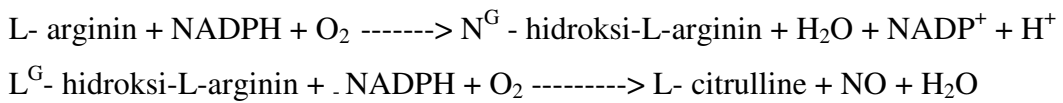
olmakla beraber NO'in pek çok inflamatuvar ve otoimmün hastalığın patogeneğinde yer aldığı ve zararlı etkilerinin olduğu da bulunmuştur (Barnes ve Liew, 1995).

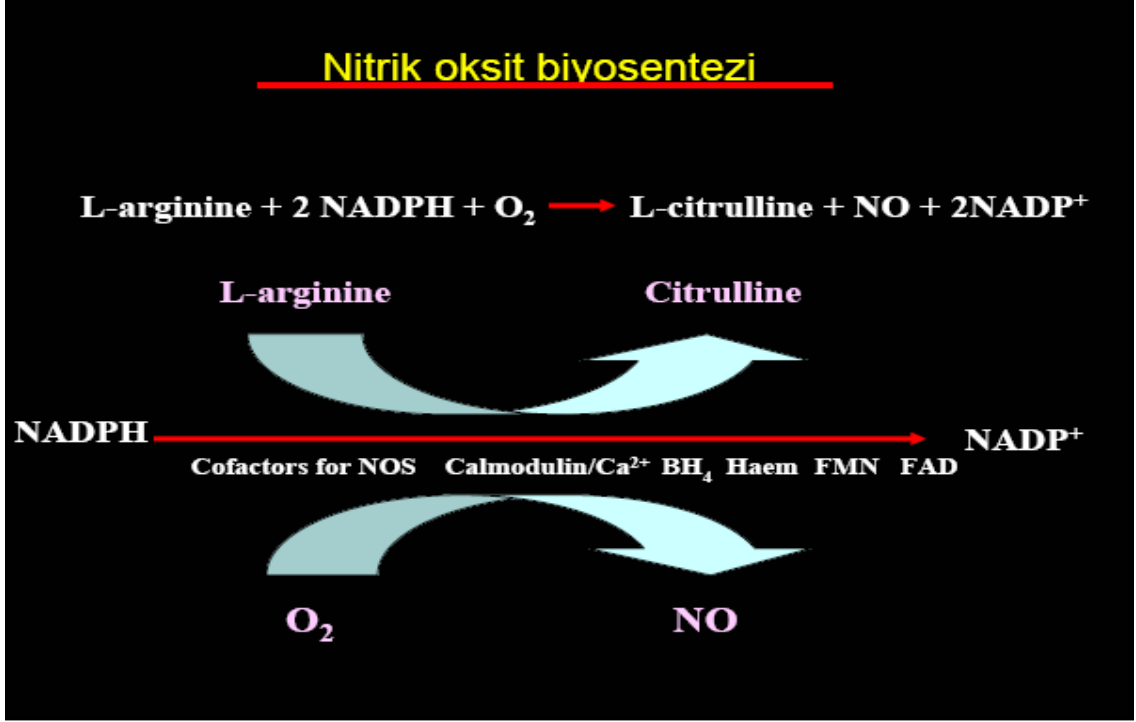
Örneğin, vazodilatasyon da dahil olmak üzere hemostatik fonksiyonlar, nörotransmisyon, trombosit agregasyonu ve adezyonunun inhibisyonu, bakteri, mantar ve parazitler gibi enfeksiyöz ajanlara karşı konak defansı ve tümör hücrelerinin ölümünde görevlidir (Moncada ve ark., 1991). NO, yüksüz bir molekül olduğu için hücrelerin içine, hücre membranlarının arasına ve hücreler arasına rahatlıkla geçerek hücre - hücre iletişimde etkin bir moleküldür (Lowenstein ve Snyder, 1992). Bununla beraber, diğer interselüler mesajcı moleküllerin aksine NO, reseptörlere bağlanmaz, yarılanma ömrü saniyeler içindedir ve etkisi geçici ve lokaldir. NO, intraselüler metabolizmada yer aldığı gibi interselüler mesajcı olarak da çalışabilmektedir (Lancaster, 1997)

NO, bir nitrojen ve bir de oksijen atomlarından oluşan ve çift olmayan elektronlar içeren bir moleküldür. Bu özelliği NO'ı oldukça reaktif serbest bir radikal haline getirmektedir. Bununla beraber diğer serbest radikallere göre (süperoksit gibi) daha az reaktiftir bu yüzden fizyolojik sıcaklıklarda kendi başına reaktive olamaz. NO, nitrosotioller (R-SNO), toksik molekül peroksinitrit (ONOO-) ve nitriller (NO_x⁻) gibi bazı diğer ürünleri üretebilmek amacıyla süperoksit, oksijen ve tiol gruplarıyla (- SH) reaksiyona girer. Peroksinitrit hem NO hem de süperoksit radikallerinin bulunduğu durumlarda oluşur ve toksik özelliği yüksektir (Wink ve ark., 1993).

Nitrik Oksitin Biyosentezi

Memeli hücrelerindeki NO formasyonu, L- argininin terminal guanidin nitrojen atomlarından birini ve oksijeni oksidize ederek L- citrullin ve NO e çeviren bir enzimler grubu olan nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından yürütülmektedir (Şekil 1.). Gerekli elektronlar, flavin adenin dinükleotid ve flavin mononükleotid içeren NADPH den elde edilmektedir ayrıca bir kofaktör olarak tetrahidrobiopterinin (T₄BPT) varlığı da gereklidir.



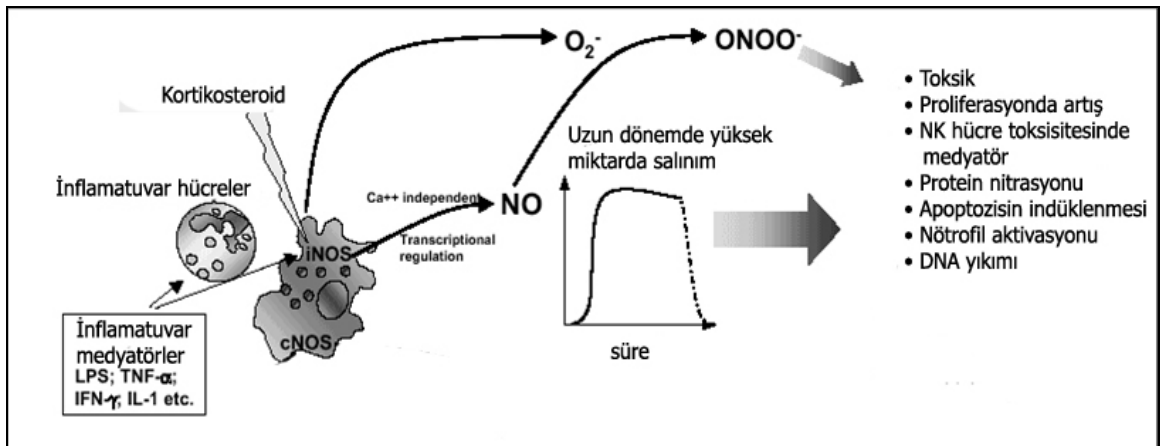


Şekil 1. Nitrik Oksit'in biyosentez mekanizması (<http://www.medscape.com>).

NOS' ın ayrı kromozomlarda farklı genlerle kodlanan üç farklı izoformu tanımlanmıştır (Sessa, 1994). Bu izoformlardan ikisi konstitütiftir, eksprese edilir ve fonksiyonel olarak düzenlenir, diğeri ise indüklenebilir bir enzimdir, protein ekspresyonuyla düzenlenir (Cho ve ark., 1992). Konstitütif izoformlar, orijinal olarak endotelial hücrelerde (ecNOS, NOS-III) ve nöronlarda (ncNOS, NOS-I) yer alırlar, aktiviteleri, kalmodulin ile düzenlenen artmış intraselüler kalsiyum seviyelerine bağlıdır. İndüklenebilir izoform ise (iNOS, NOS-II), kalsiyumdan bağımsızdır, sitolitik bir enzimdir, sitokinlerin aktive ettiği makrofajlar ve pek çok diğeri hücreler tarafından bol miktarda üretilir (Knowles ve Moncada, 1994). Transkripsiyonel kontrol altındaki iNOS'ın üretimi için hem mRNA sentezi hem de protein sentezine ihtiyaç vardır (Weinberg ve ark., 1995) bununla beraber pH, kofaktör varlığı ve diğeri proteinlerle olan ilişkiler de enzim aktivitesini düzenler (Nathan ve Xie, 1994). NOS aktivitesi, negatif feedback mekanizmasıyla çalışır ve eksojenöz NO ile inhibe edilir (Assreuy ve ark., 1993; Colasanti ve ark., 1995).

Yapılan çalışmalarda spesifik iNOS inhibitörlerinin dokuya verilmesini takiben PGE içeriğinin anlamlı olarak azaldığı bunun da NO'nin COX-2 aktivasyonunu tetiklediğinin göstergesi olduğu bulunmuştur (Förstermann ve ark., 1994).

iNOS, çeşitli immunolojik stimuluslarla indüklenmiş pek çok hücre tipi tarafından üretilir. NOS'ın konstitütif olarak eksprese edilen izoformlarının (NOS-I, NOS-III) yer aldığı dokularda NO, az miktarda, hızlıca, geçici olarak ve picomolar konsantrasyonda üretilir (Förstermann ve ark., 1994). iNOS (NOS II) ise indüklenmekten sonra, uzun sürede ürettiği, sitotoksik olan bol miktardaki NO ile diğer konstitütif izoformlardan ayrılır (Laurent ve ark., 1996). NOS-I ve NOS-III'ün aksine iNOS (NOS-II)'in indüklenmesi, NO'nin devamlı üretimine neden olmaktadır (Abu-Soud ve Stuehr, 1993). Yüksek miktarlardaki NO'nin sitotoksik potansiyelinin kontrolü için primer ve tetikleyici bir ajanın varlığı gereklidir (Şekil 2.). Örnek olarak, IFN- γ ve interlekin 1 (IL-1) veya lipopolisakkarit (LPS), iNOS'ın gen ekspresyonunda etkilidirler. Özellikle IFN- γ , LPS gibi diğer stimuluslarla aktive edilmiş makrofajlardan elde edilen NO üretimini daha da indükleyebilir (Lorsbach ve Russell, 1992). iNOS ekspresyonunu inhibe eden ajanlar ise NO'nin kendisi, interlekin 4, 6, 8, 10 (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10) yanı sıra glukokortikoid, siklosporinler ve takrolimus gibi immunosupresif ilaçlardır. Bu ajanlardan IL-10 aynı zamanda, iNOS'ı indükleyebilmektedir (Forrester ve ark., 1996).



Şekil 2. iNOS'ın indüklenerek yüksek miktarda NO üretimi ve toksisitesi (<http://www.medscape.com>).

İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz ve İmmun Yanıt

Makrofajlar / monositler (Weinberg ve ark., 1995), polimorf nüveli lökositler (Takeichi ve ark., 1998), mezenşimal hücreler, mikroglia, splenositler, Kupffer hücreleri, Natural killer hücreleri de dahil olmak üzere T- lenfositleri, T helper-1 hücreleri (T helper-2 hücreleri hariç) olmak üzere pek çok immün hücre, NO üretme yeteneğine sahiptir (Barnes ve Liew, 1995).

NO, Th-1 ve Th-2 immün yanıtlar arasındaki dengenin düzenlenmesinde düzenleyici bir role sahiptir (Taylor-Robinson ve ark., 1994). İnsan makrofajlarında iNOS' ın üretimi sıkı bir transkripsiyonel kontrol altındadır (Weinberg ve ark., 1995; Reiling ve ark., 1994) . İnsan T hücrelerinde Th-1 sitokinlerinin üretiminde, NO' in selektif bir inhibitör olduğuna dair çelişkili bulgular vardır (Liew ve ark., 1991; Bauer ve ark., 1997). Th-1 hücrelerinin interlökin-2 (IL-2) ve IFN- γ üretimi ve NO supresyonu, aşırı inflamasyonu engelleyerek koruyucu bir feedback mekanizması sağlayabilir bununla beraber kronik inflamasyonda olduğu gibi eğer başlangıç ajanları kalıcı ise Th-1 yanıtın baskılanması, Th-1 / Th-2 profilinde dengelerin bozulmasına ve enfeksiyona yatkınlığın artmasına neden olabilir. Wei ve ark. nın iNOS geni eksik fareler üzerinde yaptıkları çalışmada, fareler, enfeksiyona güçlü bir Th-1 yanıtla reaksiyon vermesine karşın enfeksiyona yatkınlıkları daha da artmıştır (Wei ve ark., 1995). Yapılan çalışmalarda NOS'ı inhibe eden ilaçların, periapikal enfeksiyonlu dişlerin kök kanallarına gönderildiğinde inflamasyonun çözülebileceği gözlenmiştir (Takeichi ve ark, 1999).

NO'ın apikal enfeksiyonun patogenezinde yer aldığı belirlenmiştir. Aynı zamanda, inflamasyonun indüklediği iNOS, NO üretimini arttırdığından dolayı Suzuki ve ark.nın (2002) yaptıkları çalışmada, pek çok periapikal inflamatuvar lezyonun granülasyon dokusunda, makrofaj ve lenfositlerin iNOS'ı eksprese ettiği gösterilmiştir. Bu iNOS ekspresyonunun ve takiben gelişen NO üretiminin periapikal doku yıkımına aracılık ettiği ve ayrıca kronik inflamasyon ve lezyon genişlemesine neden olduğu düşünülmüştür (Suzuki ve ark., 2002).

Kawashima ve ark. (2005), indüklenmiş pulpitiste birkaç saat içinde iNOS ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir (Kawashima ve ark., 2005). Takeichi ve ark.

ise, insan apikal lezyonlarında (kistler ve granülomlar) iNOS ve üretilen NO'in pulpitis ve periapikal kronik inflamasyonun düzenlenmesinde etkili olduğunu ortaya koymuşlardır (Takeichi ve ark., 1999). Fukada ve ark. nın (2008), fareler üzerinde yaptıkları çalışmada ise bakteri ile indüklenmiş apikal lezyonlarda iNOS gen ekspresyonunun arttığı gözlenmiş ve iNOS'ın salgıladığı NO'in, osteoklastlar ve öncülerinin proliferasyonunu, diferansiyasyonunu ve aktivasyonunu inhibe ederek kemik rezorbsiyonuna neden olduğu ve böylece apikal lezyonların genişlemesine yol açtığı gözlenmiştir (Fukada ve ark., 2008).

iNOS'ın indüklenmesi, COX-2 nin indüksiyonuna neden olur ve aynı zamanda Th-1 yanıtlarının inhibe edildiği bir mekanizma oluşturur. Prostaglandin E₂ (PGE₂)'nin, hücre kontrolündeki immunité üzerine immunoinhibitör etkisinin olduğu ve PGE₂, Th-1 in Th-2 fenotipine değişiminde yer aldığı, inflamasyon ve yaralanma süresince IFN- γ ve IL-2 seviyelerinin azalmasına öncülük ettiği belirtilmektedir. PGE₂ ve NO, negatif bir feed-back mekanizması ile nükleer faktörün κ B (NF κ B) aktivasyonunu inhibe ederek NO üretimini baskılanmasına neden olduğu iddia edilmektedir. (Colasanti ve ark, 1995).

Akut inflamatuvar yanıtta, bu feed-back mekanizmaları konak dokunun indüklediği doku yıkımını önlemektedir, fakat kronik durumlarda NO' in immunosupresif etkisi, enfeksiyona yatkınlığı artırır (Kendall ve ark, 2001).

İnflamasyon koşullarında İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz'ın Yeri

İndüklenebilir Nitrik Oksit (iNOS) tarafından sentezlenen NO, periodontal doku yıkımında immunomodülatör, sitotoksik ve antibakteriyel etkilere sahiptir (Zamora ve ark., 2000). Yapılan çalışmalar, NO tarafından düzenlenen süperoksit seviyelerinin nötrofiller ve makrofajların fagositik fonksiyonlarını etkilediklerini ve NO'in *P.gingivalis*'e karşı konak savunmasında önemli bir element olduğunu ortaya koymuştur (Gyurko ve ark., 2003). Genel olarak NO, inflamatuvar mekanizmanın pek çok basamağını düzenliyor gibi görünmektedir. Örnek olarak, güçlü bir vazodilatördür, akut inflamatuvar reaksiyonda erken vasküler yanıtları düzenler. Ek olarak NO, non-spesifik immun yanıtta patojenlere karşı sitostatik-sitotoksik defans mekanizmalarından biridir. NO'in süperoksitlerle interaksyonu sonucu oluşan serbest radikaller, hem koruyucu (mikroorganizmaların öldürülmesi, O₂ nötralizasyonu) hem de peroksinitrit

ve hidroksil radikallerinin formasyonu nedeniyle toksik etkiye sahiptir (Miles ve Bohle, 1996). Bununla beraber NO, aktive edilmiş inflamatuvar hücreler tarafından sentezlenir, inflamatuvar süreçte yeralan diğer hücrelerin fonksiyonlarını düzenler (Liew ve ark., 1991) ve IL-1 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin bazı fonksiyonlarında sekonder medyatör gibi davranır (Dinarello, 1996).

IL-1 β , primer olarak aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilen bir sitokin olmakla beraber hemen hemen tüm çekirdekli hücreler tarafından üretilir ve yanıtlanır. IL-1 β 'nin bazı toksik etkilerinin NO tarafından düzenlendiği düşünülmektedir. IL-1 β ve TNF α 'nın sinyalleri, tirozin kinaz ve NF- κ B gibi transkripsiyon faktörlerin aktivasyonu ile düzenlenmektedir (Corbett ve ark., 1993b). NF- κ B, inflamatuvar, immunoregülatör ve stres yanıtlarında yer alan proteinlerin gen kodlarını düzenler ve iNOS'ın indüksiyonunda önemlidir (Corbett ve ark., 1994) aynı zamanda NO'nun artması, Lipopolisakkarit / TNF'nin indüklediği NF- κ B aktivasyonunu inhibe eder böylece transkripsiyon seviyesinde negatif bir feed-back mekanizması oluşturulmuş olur (Colasanti ve ark., 1995). Glukokortikoidler, NF- κ B aktivitesinin inhibisyonu yolu ile IL-1 β , TNF- α , IFN- γ ve LPS tarafından indüklenen iNOS transkripsiyonunu engellenmektedirler. NF- κ B gibi transkripsiyon faktörlerinin inhibisyonu, patolojik yanıtları baskılayıcı terapiler için mevcut yaklaşımlardır (Colasanti ve ark., 1995).

Periodontitiste, doku yıkımında başroldeki medyatörler IL-1 β , TNF- α , PGE₂ dir. IL-1, hem iNOS hem de siklooksijenaz'ın indüklenebilir izoformunun (COX-2) ekspresyonunu indükler diğer yandan iNOS, COX-2 ve tip-2 fosfolipaz A₂ (PLA₂)'yi kodlayan genler aynı zamanda IL-1'e karşı da duyarlıdır. Bununla beraber, siklooksijenazların NO tarafından up-regülasyonu da iNOS ekspresyonuna bağlı olabilir (Stadler ve ark., 1993). Böylece pro-inflamatuvar medyatörlerin uzun süreli üretimi, NO'nun artmış üretimiyle sonuçlanabilir ve COX-2'nin PGE₂'nin senteziyle sonuçlanan stimülasyonu, doku katabolizmasına katkıda bulunur. İnflamatuvar yanıt, büyük ölçüde kendi kendini sınırlar ancak bununla beraber periodontal hastalıkta olduğu gibi inflamasyon düzenlenemediğinde veya başlatıcı faktör kalıcı durumda olduğunda (persiste olduğunda) inflamasyon, artmış doku yıkımına sebep olacak şekilde şiddetli olabilir (Kendall ve ark., 2001).

Matriks Bozunmasında İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz'ın Yeri

Fibroblastlar, bağ dokusu turn-over' ı ve yara iyileşmesinde kritik bir rol oynar. İnsan deri fibroblastlarında hem iNOS hem de ecNOS'ın ekspresyonu gösterilmiştir (Wang ve ark., 1996). Genel olarak, NO antiproliferatif etkiler gösterir ve NO'in düşük seviyeleri kollajen sentezi için gerekli iken daha yüksek seviyeleri kollajen sentezini baskılar (Bruch-Gerharz ve ark., 1998). iNOS'ın indüksiyonu fibroblast proliferasyonunu inhibe edebilir ve apoptozisi indükleyebilir (Gansauge ve ark., 1997). İnsan gingival fibroblastlarında da dermal dokuda olduğu gibi NO üretimi, inflamasyon durumunda up regüle edilebilir. Gingival fibroblastlar tarafından yüksek miktarda iNOS üretiminin indüklenmesi, bozulmuş iyileşme yanıtlarıyla sonuçlanabilir ve periodontitiste de karakteristik olarak bulunan doku yıkımı ve doku tamiri arasındaki dengesizliğe de katkıda bulunabilir (Kendall ve ark., 2001).

Bu bulgular, hücre-hücre, hücre ile matriks ve biyoaktif moleküller arasındaki kompleks ilişkilere dikkat çekmektedir. Homeostaz, hücre ölümü ve hücre büyümesi arasındaki denge ile korunur ve NO, sitostazis ve apoptozisi indükleyerek bu dengenin bozulmasına neden olur. İyileşme ve inflamasyon gibi durumlar süresince interselüler çevrede meydana gelen değişimler, NO seviyelerini değiştirebilir ve mevcut fibroblastlarda NOS'ın ekspresyonunu indükleyebilir. Fibroblastlardaki iNOS ekspresyonu mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu yüzden doku yıkımında, NO'in bir medyatör olduğuna dair bulgular tartışmalıdır ve NO, sitostatik / immunosupresif etkilerinin kuvvetinden dolayı bazı durumlarda inflamatuvar yanıtın disregülasyonunda yer alabileceği düşünülmeyle beraber doku yıkımında direkt olarak etkisi henüz açıklığa kavuşturulamamıştır (Kröncke ve ark., 1997).

İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz ve Kemik Metabolizması

Kemiğin yeniden yapılandırılması, osteoblast tarafından yürütülen kemik formasyonu ve osteoklast tarafından yürütülen kemik yıkımı süreçlerinin eşleştiği iyi düzenlenmiş, belli bir zincir içinde oluşan bir prosedürdür. Osteoblastlar ve

osteoklastlar, hem NO üretebilmekte hem de NO'e karşı yanıt oluşturabilmektedir. Osteoblastların salgıladığı NO, yeniden şekillendirme süresince osteoklastlar veya osteoblastlar üzerine etkili olabilirler. Bu durum, NO'in kemik metabolizmasında parakrin ve otokrin bir düzenleyici olduğunun kanıtıdır. (Brandi ve ark., 1995). Yüksek konsantrasyondaki NO, osteoklast formasyonunu ve olgun osteoklastların aktivitesini baskılar, kemik rezorbsiyonunu inhibe eder, bununla beraber NO'in düşük konsantrasyonları, osteoklast aktivitesinin düzenlenmesi için gerekli olabilir. NO ve serbest radikaller arasındaki ilişki, sitokinler ve/veya LPS'nin aktive ettiği makrofajlar tarafından yürütülmektedir. Superoksit ve hidrojen peroksit gibi serbest radikaller osteoklastik kemik rezorbsiyonunu stimüle ettiğinden dolayı bu ilişki osteoklast fonksiyonu için anlamlı olabilir (Garret ve ark., 1990). Sitokin ve/veya LPS tarafından indüklenen iNOS' ın, osteoblastların büyüme ve farklılaşmasını inhibe ettiği bulunmuştur (Ralston, 1994), yüksek konsantrasyonlarda iNOS aynı zamanda apoptozisi indüklemektedir (Damoulis ve Hauschka, 1997).

Periodontitis, sitokinler (TNF- α , IL-1) ve prostaglandinler gibi medyatörlerin aktivasyonu nedeni ile lokalize kemik kaybı ve doku yıkımıyla sonuçlanan kronik inflamatuvar bir hastalıktır (Kendall ve ark., 2001). Kemikte iNOS'ın indüklenmesi, inflamasyon süresince gerçekleşmektedir (Fox ve Chow, 1998) ve NO ile prostaglandinler beraber hareket ederek kemik rezorbsiyonunu stimüle ederken osteoblast fenotipinin ekspresyonunu da inhibe edebilirler (Ralston, 1997; Hughes ve ark., 1999). Kalıcı inflamasyon ve sitokinler tarafından indüklenen iNOS üretimi, kemik rezorbsiyonu ve kemik formasyonu arasındaki dengenin bozulmasına neden olabilirler (Kendall ve ark., 2001)

Normal oral mukozada NOS ekspresyonu ve aktivitesi bulunamamıştır ancak NOS ekspresyonu ve aktivitesi ile displazinin şiddeti arasında ilişki bulunmuştur. Ayrıca oral displazide, iNOS ile hem vasküler endotelial büyüme faktörü ekspresyonu (VEGF) hem de p53 ekspresyonu arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. Böylece displaziden maligniteye kompleks transformasyonda, NO üretimi anjiyogenezisi kolaylaştırabilmektedir. Spesifik iNOS antagonist ilaçlarının kullanıldığı hayvan çalışmalarında invazivlik ve metastazın %60 a varan oranda azaldığı gözlenmiştir. (Brennan ve ark. 2003).

iNOS, inflamatuvar eklem hastalıklarının patofizyolojik yapısıyla da yakından ilişkilidir. İnsan (Tempora Mandibular Eklem) TME artritinde meydana gelen kıkırdak doku yıkımında NO ve iNOS yakın ilişki içindedir. TME deki sinoviyal membranda makrofaj benzeri tip A hücreleri ve fibroblast benzeri tip B hücreler mevcuttur. Makrofaj benzeri tip A hücreler TME inflamasyonunun ilerleyişinde etkili NO ve iNOS gibi substantları üretme yeteneğine sahiptir (Brennan ve ark. 2003).

2.2. Periodontal Hastalık ve Sitokinler

Periodontal hastalık, bakteriler tarafından indüklenen, gingival inflamasyon, periodontal doku yıkımı ve alveolar kemik yıkımının meydana geldiği kronik inflamatuvar bir hastalıktır (Socransky ve Haffajee, 1992). Periodontal hastalığın ana etiyolojik ajanı, plak biofilmi içinde yer alan gram negatif bakterilerdir (Liljenberg ve ark., 1994) Bununla beraber, periodontal hastalığın patogenezinin göre, periodontal hastalığın karakteristiğini oluşturan doku yıkımı, direkt olarak infeksiyöz ajandan çok indirekt olarak konağın infeksiyona yanıtı sonucu oluşur (Van Dyke ve ark., 1993).

Periodontal hastalıkta konak yanıtı, inflamatuvar medyatörlerin (PGE₂, IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α), sitokinlerin, kemokinlerin ve matriks metalloproteinazların üretimi ile karakterizedir (Offenbacher ve ark., 1993). Periodontal patojenden kaynaklı lipopolisakkaritlere yanıtta inflamatuvar medyatör seviyesinin arttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Van Dyke ve ark., 1993). Sitokinler, hücre büyüme, farklılaşma ve aktivasyonu düzenleyerek inflamasyonun başlamasında etkilidirler (Takeichi ve ark., 1999). Bununla beraber pek çok çalışma, sitokinlerin periodontal hastalıklardaki varlığını (Gemmell ve ark., 1997), çeşitli sitokinlerin biyolojik aktivitelerinin periodontal ataşman kaybı, kollajen yıkımı ve alveolar kemik kaybı gibi periodontal doku yıkımlarıyla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Gorska ve ark., 2003).

Sitokinler, sistemik ve lokal bakteriyel infeksiyonlara karşı konak savunmasının düzenlenmesinde önemli role sahip moleküllerdir ve farklı etkilere sahip hücrelerin üretimi ve aktivasyonunda ana etkiye sahip hücre düzenleyicileridir (Gemmell ve ark., 1997). Bu küçük polipeptidler, inflamatuvar, metabolik, immunomodülatör, hemopoietik özelliklere sahiptir ve makrofaj/monosit sistem, dendritik hücreler, lenfositler, nötrofiller, endotelial hücreler ve fibroblastlar olmak

üzere pek çok hücre tipi tarafından üretilirler (Arai ve ark., 1990). Sitokinler, belli bir iletişim ağı içinde etkileşirler. Bu etkileşimlerin birincisi birbirlerini indükleme, ikincisi hücre yüzey reseptörlerini transmodüle etme ve üçüncüsü de hücre fonksiyonunda sinerjistik, antagonistik ve aditif etkidir (Balkwill ve Burke, 1989).

İmmunite, spesifik immun yanıtın hücrel ve hümorale olarak isimlendirilen iki ana tipine bağlıdır. Hücrel ve hümorale immun yanıtlar arasındaki denge, T hücreleri tarafından üretilen sitokinlerle ve antijen sunucu hücrelerle (APC) ilişkili faktörler tarafından düzenlenmektedir. T hücreleri ürettikleri, sitokin profiline göre Th1 ve Th2 olmak üzere iki alt gruba ayrılmaktadır (Mosmann ve ark., 1996). Pek çok çalışmaya göre IL-12, IL-1 β , IFN- γ , IL-6, TNF- α gibi bazı sitokinlerin Th1 immun yanıtta dahildir ve hücrel immunitiyi düzenlerler. Buna karşın IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 ise Th2 immun yanıtta dahildir ve hümorale immunitiyi düzenlemektedir (Van Der Broek ve ark., 2000; Belardelli ve Ferrantini, 2002).

IL-1, kompleman komponentlerine, bakteriyel toksinlere ve mikroorganizmalara yanıtta veya doku yaralanmalarında makrofajlar, endotelial hücreler, B hücreleri, fibroblastlar, epitelyal hücreler, osteoblastlar olmak üzere pek çok hücre tipi tarafından üretilen ve pek çok hücre tipi üzerinde iltihabi yanıtın ana medyatörü olarak davranan bir sitokindir (Dinarello ve ark., 1987). IL-1' in en önemli aksiyonu, diğer sitokinlerin indüksiyonudur (O'Garra ve ark., 1989) ve bu kendi kendini regüle eden ve baskılayan sitokin ağının bir parçasını oluşturur (Ghezzi ve Dinarello, 1988).

TNF- α da, IL-1'le benzer özelliklere sahip olduğu düşünülen ve çeşitli biyolojik etkilere sahip multipotansiyel bir moleküldür (Le ve ark., 1987). TNF- α , temel olarak lipopolisakkarit gibi ajanlara yanıtta makrofajlar tarafından üretilmektedir (Clemens, 1991). IL-1 ve TNF- α kronik inflamatuvar hastalıkların ana medyatörleridir ve periodontal hastalıkta doku yıkımı ve kemik kaybını başlatıcı potansiyele sahiptir (Birkedal-Hansen, 1993). Hem TNF- α , hem de IL-1, polimorf nüveli nötrofiller ve monositlerin atışmasını arttırmak amacıyla endotelial hücreler üzerinde çalışırlar ve böylece bu hücrelerin inflamasyon alanına yayılmasına yardımcı olurlar (Bevilacqua ve ark., 1985). IL-1 β ve TNF- α , inflamasyon, doku yıkımı, kemik rezorpsiyonu, matriks metalloproteinaz ve ProstaglandinE₂ üretimi ile ilişkili pek çok olayı indüklemektedir. (Gorska ve ark., 2003). IL-1, fibroblastları kollagenaz üretmek üzere indükler (Richards

ve Rutherford, 1988). Diğer yandan TNF- α ise doku yıkımına, kollagenazı ve bağ dokusu yıkımını oluşturmak amacıyla fibroblastlar tarafından gerçekleştirilen tip I kollajenlerin yıkımını stimüle ederek aracılık etmektedir (Dayer ve ark., 1985). Ayrıca IL-1 β , kemik rezorbsiyonunu da güçlü bir biçimde indükleyen sitokinlerden biridir (Gowen ve ark., 1983). IL-1 β , bu etkisini iki mekanizmayla gerçekleştirmektedir. Mekanizmalardan biri ProstaglandinE₂'nin üretim ve salınımını stimüle eder böylece kemik rezorbsiyonunu da stimüle etmiş olur. İkinci mekanizma ise prostaglandin sentezinden bağımsız olarak IL-1 β 'nın osteoklastlar üzerine direkt etkisi ile gerçekleşmektedir. TNF- α molekülleri ise, kemik rezorbsiyonunu indirekt olarak, osteoklast öncülerinin proliferasyon ve farklılaşmasını indükleyerek ve oluşmuş osteoklastları aktive ederek stimüle eder (Bertolini ve ark., 1986) ve etkileri Prostaglandin E₂ tarafından idare edilmektedir (Schwartz ve ark., 1997). Ancak TNF- α , kendi başına, kemik rezorbsiyonunda IL-1 e göre yüz kat daha az potansiyele sahiptir (Stashenko ve ark., 1987). Bununla beraber IL-1 β , bağ dokusu matriksindeki major değişikliklerde olduğu gibi kemik rezorbsiyonunun stimülasyonunda da TNF- α ile sinejistik etkileşim içindedir (Stashenko ve ark., 1987).

Prostaglandinlerin kemik rezorbsiyonundaki etkileri ilk olarak 1970'de rapor edilmiştir (Klein ve Raisz, 1970) ve bunu takiben periodontal kemik kaybındaki rolü ortaya konmuştur (Goldhaber, 1971). İlk çalışmalar, prostaglandin E₂'nin kemik rezorbsiyonundaki en güçlü stimülatör olduğu üzerine yapılmıştır ve periodontal hastalıkla ilgili çalışmalarda da prostaglandin E₂'nin bu özelliği üzerine yoğunlaşmıştır (Goodson, 1974). Prostaglandin E₂, pek çok proinflamatuvar etkilere sahiptir ve vazodilatasyonu indükleyerek ve kapiller permeabiliteyi artırarak inflamatuvar sürece katkıda bulunur ve bu etkiler, diğer inflamatuvar medyatörlerle sinerjizm ile artış gösterir (Williams ve Peck, 1977). IL-1 ve TNF- α , araşidonik asit yolunu aktive eder ve böylece prostaglandin E₂ miktarını arttırmaları (Clemens, 1991). Hastalıklı dokuda bulunan Prostaglandin E₂ nin büyük bir kısmı inflamatuvar hücreler tarafından salgılanmaktadır. Periodontal hastalıklı bireylerden elde edilen ve lipopolisakkaritler tarafından aktive edilmiş gingival makrofajlar bol miktarda Prostaglandin E₂ üretmektedirler. İnflamatuvar hücrelerin lipopolisakkaritler aracılığı ile direkt stimülasyonunun yanı sıra lipopolisakkaritlere yanıtta bu hücreler tarafından üretilen sitokinler, mezenşimal hücrelerin ve osteoklastların da ProstaglandinE₂

salgılamasına neden olurlar. Örneğin IL-1 in etkisi ile gingival fibroblastlar Prostaglandin E₂ salgırlar. IL-1β' ya yanıtta ve ayrıca lipopolisakkarit tarafından stimüle edilmiş ortama uygun monositlere yanıtta hem gingival hem periodontal ligament fibroblastları tarafından prostaglandin E₂ salgılanmaktadır (Richards ve Rutherford, 1988). Çalışmalarla, periodontal ligament hücrelerinin stimüle edilmedikleri durumlarda da prostaglandin E₂ salgıladıkları ve bu salgının IL-1, IL-1β ve TNF-α ile inkübasyonla arttığı ve paratroid hormonun eklenmesiyle bu etkinin daha da şiddetlendiği ortaya konmuştur (Saito ve ark., 1990). Bu sitokinlerin ve IFN-γ'nın kombinasyonlarıyla inkübasyon, periodontal ligament fibroblastları tarafından Prostaglandin E₂ üretimi üzerine, sinerjistik, aditif, subtraktif veya baskılayıcı etkilere sahip olabilir (Gemmell ve ark., 1997).

Interferonlar, pek çok immunomodülatör aktivitelerinin yanı sıra ilk olarak virüs replikasyonunu engelleyen substantlar olarak tanımlanmışlardır. IFN-γ, hem biyolojik hem de biyokimyasal özellikler bakımından IFN-α, IFN-β' dan farklıdır, IFN-β, virüsle infekte olmuş hücreler tarafından üretilirken IFN-γ, immün yanıt süresince antijen spesifik hücreler ve natural killer hücreler tarafından üretilirler. IFN-γ'nın düzenleyici etkileri, sitolitik T hücrelerinin ve natural killer hücrelerinin aktivasyonu ve gelişimlerinin artırılması kadar makrofajların tümör öldürücü kapasiteleri ve fagositoz yeteneklerini arttırmak amacıyla aktivasyonlarını da kapsamaktadır (O'Garra A, 1989). IFN-γ, makrofajlar ve lenfoid hücreler, endotelial hücreler, mast hücreleri, fibroblastlar olmak üzere daha pek çok diğer hücre tipinde Fcγ reseptör ekspresyonunu ve sınıf II major histocompatibility kompleksini indükler, sınıf I major histocompatibility kompleksini de indükleyerek hücrelerin, antijen sunma kapasitelerini etkiler (Rosa ve Fellows, 1984). IFN-γ ayrıca humoral immün sistemin mikrobiyal patojenleri yıkıma uğratabilme yeteneğini artırır (Finkelman ve ark., 1988). Buna bağlı olarak IFN-γ, Th1 alt gruplarının indüksiyonu için gereklidir (Gemmell ve ark., 1997). IFN-γ, biyolojik sistemlerde IL-1β ve TNF-α ile benzer etkilere sahiptir. Ancak kemik rezorbsiyonunda IL-1β ve TNF-α'nın tersi bir etkiye sahiptir ve IL-1β ve TNF-α tarafından indüklenen kemik rezorbsiyonunu inhibe eder (Schwartz ve ark., 1997). IFN-γ, Th2 hücrelerinin ve osteoklast fenotiplerinin proliferasyonunu da inhibe etmektedir (Gorska, 2003).

Tüm bu sitokinler, immun ve inflamatuvar yanıtlarda rol oynar ve inflamasyonun sonucu, aralarındaki ilişki seviyesinin dengesine bağlıdır (Gorska, 2003).

Periodontal Hastalıkta NO ve iNOS'ın Yeri ve Sitokinlerle İlişkisi

Kendall ve ark., insan dişeti dokusunda iNOS'ın lokalizasyonu ve dağılımını belirlemeyi hedefledikleri çalışmalarında iNOS'ın inflame dokuda sağlıklı dokuya oranla daha yüksek miktarlarda bulunduğunu ve inflamatuvar hücreler ve fibroblastlar tarafından güçlü bir biçimde eksprese edildiğini bulmuşlardır (Kendall ve ark., 2001).

Uğar ve ark. ise yaptıkları çalışmada, periodontitis hastalarında tükürük arginaz aktivitesinin sağlıklı kontrollere kıyasla arttığını belirlemişlerdir. Periodontitiste artmış tükürük arginaz aktivitesi, NO sentezinin ve dolayısıyla tükürüğün antibakteriyal özelliğinin azalmasına ve böylece periodontal dokuların, patojenlerin yaşaması için daha elverişli bir ortam haline gelmesine neden olabileceğini iddia etmişlerdir (Uğar ve Özmeriç, 2006). Aurer ve ark. da periodontal hastalıklı bireylerde, periodontal sağlıklı bireylere oranla daha düşük nitrit konsantrasyonu belirleyerek benzer sonuçlar elde etmişlerdir (Aurer ve ark., 2001)

Uğar ve ark. nın yaptığı bir diğer çalışmada periodontal tedavi öncesinde ve sonrasında kronik periodontitis hastalarından gingival dokular toplanmış, iNOS ekspresyonu ve arginaz aktivitesinin spektrometrik olarak belirlenebilmesi için immunohistokimyasal boyama işlemi yapılmıştır. İnflamatuvar hücrelerin bol bulunduğu biyopsi örneklerinde iNOS ekspresyonu daha yüksek bulunmuş bununla beraber, iNOS'ın periodontal tedavi öncesi yüksek olduğu tedavi sonrasında ise azaldığı gözlenmiştir. Ancak bu durumun tam tersi bir biçimde arginaz aktivitesinin periodontal tedavi sonrasında arttığı belirlenmiştir (Uğar ve Özmeriç, 2006).

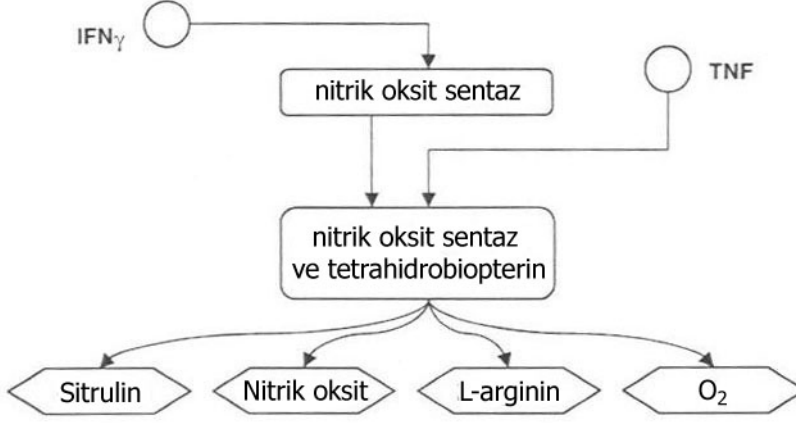
Lohinai ve ark. yapmış oldukları bir çalışma ile periodontitisin gelişiminde iNOS'ın rolü ve periodontitiste iNOS aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (Lohinai ve ark., 1998). Benzer bir çalışma ile Lappin ve ark. da kronik periodontitisli hastalardan elde ettikleri gingival dokularda iNOS ekspresyonunu klinik sağlıklı bireylere oranla yüksek bulmuşlardır (Lappin ve ark., 2000). Hirose ve ark. periodontitisli dişeti dokusunda iNOS'ın mRNA ekspresyonunu belirlemişler ve periodontitis hastalarında sağlıklı

bireylere oranla mRNA pozitif alanların daha çok olduğunu göstermişlerdir (Hirose ve ark., 2001).

Lappin ve ark. iNOS'ın varlığının, dokuda inflamasyonun derecesiyle ilişkili olduğunu ve bağ dokusundaki iNOS pozitif hücrelerin ağırlıklı olarak makrofajlar olduğunu ortaya koymuşlardır. iNOS üretiminin en önemli kaynağının, makrofajlar ve endotelial hücreler olduğu düşünülmektedir (Lappin ve ark., 2000). Bununla beraber Lappin ve ark.'nın çalışmasında epitelial hücrelerden kaynaklı iNOS miktarı az bulunmuştur (Lappin ve ark., 2000). İnflamatuvar alanlarda meydana gelen iNOS ve NO salınımının, T-hücre yanıtı tipinin belirlenmesinde role sahip olduğu düşünülmektedir (Lappin ve ark., 2000). TNF- α , IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinler, aktive edilmiş makrofajlar ve fibroblastlar tarafından sağlanan PGE₂ ve metalloproteinaz üretimini artırma yeteneğine sahiptir ve periodontitisteki doku yıkımında kritik medyatörler olarak kabul edilmektedirler. Lipopolisakkaritlerin ve inflamatuvar ve yerleşik hücreler tarafından üretilen TNF- α , IL-1 β , IFN γ gibi sitokinlerin iNOS'ın anlamlı miktarlarının üretimini tetikleyebileceği ve bu nedenle de iNOS tarafından gerçekleştirilen NO üretiminin, periodontitiste inflamatuvar yanıtın bozulmasına katkıda bulunabileceği ve doku yıkımıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Kendall ve ark., 2001). Daghigh ve ark. yaptıkları in vitro çalışma ile insan gingival dokusunda, proinflamatuvar sitokinlerin varlığında fibroblastların da iNOS kaynağı oldukları ve NO' in bol miktarda üretilmesini sağladıkları ortaya konulmuştur (Daghigh ve ark., 2002). IL-1 β , TNF α , IFN γ inflamatuvar hücrelerde iNOS üretimini stimüle ederler ve bu üç molekülün kombinasyonu iNOS'n indüklenmesinde sinerjistik etkiye sahiptir (Şekil 3.). Dolayısıyla bu medyatörlerin periodontal hastalıkta arttığı bilindiğinden inflamatuvar hücrelerde iNOS ekspresyonunun da artması beklenmektedir (Uğar ve Özmeriç, 2006).

Periodontal dokularda, iNOS ekspresyon hücreleri tarafından üretilen NO'in büyük miktarları ve aşırı NO seviyeleri, periodontal dokularda yıkıma neden olabilir. Artmış NO üretimi, inflamatuvar sitokinlerin ve diğer medyatörlerin iNOS'ı indüklediği aktive immun sistemin bir yansıması sonucudur (Clancy ve ark., 1998). Majetka ve ark. da inflame gingival dokuda L-arginin ve L-citrullin'in sağlıklı örneklere kıyasla daha yüksek konsantrasyonda olduğunu göstermişlerdir (Majetka ve ark., 1999). L-citrulline, NO formasyonu ile ilişkilendirildiğinden L-citrullin'in artmış seviyeleri, periodontal

dokularda artmış NO seviyelerini göstermektedir. Bu yolla, argininin citrullin'e dönüştüğü direkt enzimatik değişimde iNOS, yüksek bir ihtimalle NO'te bir artışa neden olabilmektedir (Bredt ve Schmidt, 1996).



Şekil 3. Nitrik oksitin Nitrik Oksit Sentaz yolu ile üretimi. (Uğar ve Özmeriç, 2006).

Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada Lohinai ve ark. ligatürle indüklenmiş periodontitis modelinde, iNOS ekspresyonunu, inflamatuvar hücreler ve gingival epitelin bazal tabakasında belirlemişlerdir (Lohinai ve ark., 1997). Buna ek olarak ligatürle indüklenmiş periodontitisli ratlarda tedavi, iNOS'ın selektif bir inhibitörü olan merkaptotilguanidin (MEG) uygulaması için yapılmış ve kontrol grubuyla kıyaslandığında kemik rezorbsiyonunda anlamlı bir biçimde azalma gözlenmiştir (Lohinai ve ark., 1998). iNOS'ın selektif inhibitörlerinin kullanılması şok, artrit, inflamasyon gibi diğer modellerde de yararlı etkilerin ortaya çıkmasını sağlamıştır.

Sonuç olarak NO'nin aşırı miktardaki üretimi, periodontal dokularda doku yıkımına neden olabilmektedir ve periodontal hastalıkların patogeneğinde etkindir. Periodontal dokulardaki NO'nin büyük bir kısmı, L-arginazla ilişkili guanidino nitrojenin oksidasyonunu katalize eden iNOS tarafından üretilmektedir. (Uğar ve Özmeriç, 2006).

2.3. Diabetes Mellitus'un Teşisi, Genel Belirti ve Semptomları

Diabetes Mellitus, genel karakteristiği değişmiş glukoz toleransı, bozulmuş lipid ve karbonhidrat metabolizması olan bir grup heterojenöz bozuklukta oluşur

(Açıköz ve ark., 2004). Diabetes Mellitus, insülin üretimindeki eksiklik ya da insülinin kullanımındaki bozulma sonucu oluşur. Bu iki duruma göre diabetes mellitus, iki ana tipe ayrılabilir: Tip 1 (insüline bağımlı diabetes mellitus) ve Tip 2 (insüline bağımlı olmayan diabetes mellitus). Diabetes insipidus, vazopressindeki (anti-diüretik hormon) eksiklik veya böbreklerin bu hormona karşı direnci sonucu oluşur. Vazopressinin üretimindeki veya aksiyonundaki azalma, aşırı ürün üretimi veya poliüriye neden olur, fakat kandaki glukoz seviyeleri üzerine herhangi bir etkisi olmaz (Szopa ve ark, 1993).

Tip 1 Diabetes Mellitus, pankreasta insülin üreten β hücrelerinin yıkımı sonucu oluşur. Genetik olarak yatkın bireylerde, viral enfeksiyon gibi, yıkıcı otoimmün yanıtı indükleyen bir dizi tetikleyici olaya maruz kalmaları sonucu β hücreleri yıkıma uğrar. Oluşumu genellikle anidir, stabil değildir ve kontrolü zordur (Yoon, 1991).

Tip 2 Diabetes Mellitus, insülin moleküllerindeki defektten veya insülin eksikliğinden ziyade insülinin hücre reseptörlerindeki değişikliğe bağlı olarak insülin fonksiyonundaki bozukluklardan kaynaklanır (Atkinson ve Maclaren, 1990). Bununla beraber hastalığın ilerleyen safhalarında, insülin üretimi azalabilir ve insülin takviyesi gerekli olabilir (Rees, 1994). Semptomların oluşumu genelde kademelidir ve ketoasidoz oluşumu nadirdir. Tip 2 Diabetes Mellitus hastaları genelde obezdir ve bu hastaların glukoz toleransları diet ve vücut ağırlığının kontrolü ile düzeltilebilmektedir. Bunlara ek olarak, glukoz seviyesini kontrol altında tutan ajanlara ihtiyaç duyulabilmektedir. (Rees, 1994).

Toplam diyabet vakalarının % 85 – 90 ı Tip 2 Diabetes Mellitus iken % 5 – 10 u Tip 1 Diabetes Mellitustur. Diabetes Mellitusun üçüncü bir kategorisi ise hamilelikte ortaya çıkan gestasyonel diyabettir. Bu diyabet tipi ise toplam vakaların % 2 ile 5ini oluşturmaktadır (Emrich ve ark., 1991).

Diabetes mellitus, oral kavitede dahil olmak üzere vücuttaki tüm dokular üzerinde genel bir etkiye sahiptir. Diabetes Mellitusun klasik belirti ve semptomları, deri, rektum veya vajinada kaşıntı, yorgunluk, halsizlikle beraber poliüri, polidipsi, polifaji üçlüsünü içerir. Bu indikatörler, Tip 1 Diabetes Mellitusta daha sık görülür ancak Tip 2 Diabetes Mellitusta da çeşitli derecelerde oluşur. Kilo kaybı özellikle Tip 1 Diabetes Mellitusta meydana gelir. Tip 1 Diabetes Mellitusta artan ketoasidoza bağlı

olarak bulantı ve kusma görülebilir. Uykusuzluk, uyuşukluk ve sinirlilik de görülebilir. Ancak bu belirti ve semptomlar, erken teşhis ve etkili terapi ile geri dönüşümlü olabilir (Teuscher ve ark., 1989; Rees, 1994).

Diabetes Mellitus'un Sistemik Komplikasyonları

Diabetes Mellitusun genel belirti ve semptomları hipergliseminin direkt etkileri sonucudur. Bununla beraber, Diabetes Mellitusun sistemik komplikasyonları, hipergliseminin sürekliliğiyle ilişkilidir. Diabetes Mellitusun ana komplikasyonları olarak retionopati, nöropati, nefropati, makrovasküler hastalıklar ve bozulmuş yara iyileşmesi sayılabilir. Ayrıca anormal lipid metabolizması ve kas harabiyetine bağlı olarak hızlanmış aterosklerotik serebrovasküler, kardiyovasküler ve periferel vasküler hastalıklar da oluşabilir. Miyopatiler ise halsizlikte artışa ve egzersiz toleransında azalmaya neden olabilir. Nöropatiler, periferel his kaybına, bazen gastrointestinal nöropatiye bağlı olarak disestezi ve ortostatik hipotansiyona neden olan otonom sinir dejenerasyonuna neden olabilir. Bazı bireylerde de, son aşamaya kadar ilerleyen böbrek hastalıklarına neden olan böbrek yetmezliği gelişebilir. Bu hastalar renal diyaliz veya transplantasyona ihtiyaç duyabilirler ve diyabetik nefropati hipertansiyon insidansının artışına neden olabilir (Teuscher ve ark., 1989; Rees, 1994).

Periodontal Hastalık ve Diabetes Mellitus İlişkisi

Diyabet, periodontal hastalıklar da dahil olmak üzere pek çok bakteriyel enfeksiyon için risk faktörü olarak kabul edilen sistemik bir hastalıktır (Akintewe ve ark., 1984). Periodontal hastalığın patogenezi, farklı mikrobiyal floralar ve floraların pek çok ürünüyle beraber kronik inflamatuvar sürecin başlangıç ve devamının kombinasyonu olduğundan dolayı oldukça komplekstir. Periodontal hastalığı takiben gelişen konak yanıtı, doku yıkım yollarının kompleks zincirini oluşturmaktadır (Page, 1991). Genel olarak diyabetli bireylerin, sistemik sağlıklı bireylere kıyasla enfeksiyon gelişimine daha yatkın oldukları kabul edilmektedir. Ayrıca, aynı enfeksiyonun diyabetik bireylerde diyabetik olmayan bireylere oranla daha şiddetli seyrettiğine de inanılır (Manouchehr-Pour ve ark., 1981). Diyabet, lokal mikrobiyal faktörlere (örn:

endotoksin) karşı beklenmedik periodontal yıkımla sonuçlanan konak yanıtını arttırarak bu süreci etkilemektedir (Katz ve ark, 1991) ve L e'ye göre periodontitis, diyabetin altıncı komplikasyonu olarak kabul edilmektedir (L e, 1993). Diyabetle periodontal hastalık arasındaki sıkı ilişkinin mekanizması yıllardır bir çok çalışmanın konusunu oluşturmuştur. Tip 2 diyabetli bireylerde gingival inflamasyona, diyabetli olmayan bireylere göre daha sık rastlanmaktadır (Albandar ve Tinoco, 2002). Albandar ve Tinoco 2002 yılında yaptıkları epidemiyolojik bir çalışmada diyabetli bireylerde gingival inflamasyonu yaklaşık %64 oranında, sistemik sağlıklı bireylerde ise bu oranı yaklaşık %50 olarak bulmuştur (Albandar ve Tinoco, 2002). Taylor ve ark.nın (1998) yaptıkları bir çalışmada ise tip 2 diyabetli periodontitisli bireylerde %67, sistemik sağlıklı periodontitisli bireylerde ise % 44 oranında radyografik olarak anlamlı kemik kaybına rastlanmıştır. Bu bulgular, diyabetli bireylerde periodontal hastalığın daha hızlı ilerlediğini desteklemektedir (Taylor ve ark, 1998).

Tip 2 diyabet hastalarında, zayıf glisemik kontrol ile artmış periodontitis arasındaki pozitif ilişkiyi ortaya koyan pek çok çalışma mevcuttur (Finestone ve Boorujy, 1967; Wolf, 1977; Wheat, 1980; Bissada ve ark., 1982; Rayfield ve ark., 1982; Safkan-Seppala ve Ainamo, 1992; Sorsa ve ark., 1992; L e, 1993; Mendieta ve Reva, 1993; Tervonen ve Oliver, 1993). Zayıf metabolik kontrolün, diyabetik periodontisteki doku yıkımından sorumlu olduğu d şn len oksidatif stres, glikolizasyon son ürünü (AGE) ve immun yanıtın artışına sebep olduğu bilinmektedir. Ayrıca kemotaksis, fagositoz, sitokin üretimi ve sekresyonu gibi normal hücre fonksiyonlarının da hiperglisemiden etkilendiği d şn lmektedir (Mealey B.L., 2006). Bununla beraber diyabetli bireylerde gingivitisin varlığının yüksek plak akümülasyonu ile ilişkili olmadığı d şn lmektedir, çünkü diyabetli bireylerde plak indeksinde anlamlı bir artış bulunmamıştır (Fıratlı, 1997). Bu bulgular doğrultusunda glisemik seviyelerin normalize edilmesi durumunda diyabetli bireylerde gingivitisin şiddet ve derecesinin anlamlı bir biçimde azalabileceği de d şn lmektedir (Karjalainen ve ark., 1996). III. Ulusal Sağlık ve Beslenme Alan alışması (NHANESIII) tarafından elde edilen verilere göre sağlıklı bireylerle kıyaslandığında periodontal hastalık, (HbA1C ≤9) diyabetik bireylerde yaklaşık olarak %50, (HbA1C >9) bireylerde ise yaklaşık %200 daha yüksek oranda belirlenmiştir (Tsai ve ark., 2002). Bununla beraber periodontal hastalığın da insülin rezistansını arttırıcı etkilere sahip olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur

(Stewart ve ark.,2001). Sammalkorpi ve ark., bakteriyel infeksiyonun akut fazı süresince insülin rezistansının %33 arttığını, iyileşme periyodunda ise bu artış oranının %28 olduğunu göstermişlerdir (Sammalkorpi ve ark., 1989). Iwamoto ve ark.nın (2001) yaptıkları bir çalışmada tüm periodontal ceplere 4 hafta boyunca, haftada bir lokal minosiklin uygulanması ile HbA1C seviyelerinin düştüğü gözlenmiştir (Iwamoto ve ark., 2001). Stewart ve ark.nın 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada ise periodontitisli Tip 2 diyabet hastaları kontrollü ve kontrolsüz olmak üzere ikiye ayrılmış, cerrahisiz periodontal tedaviyi takiben, her iki diyabet grubunda da HbA1C seviyelerinin düştüğü bulunmuştur. Ancak kontrolsüz Tip 2 diyabet hastaların HbA1C seviyelerindeki azalma kontrollü gruba göre daha yüksek bulunmuştur (Stewart ve ark., 2001). Tervonen ve ark.nın 1993 yılında yaptıkları bir çalışmada kontrol altındaki diyabet hastalarının cerrahisiz periodontal tedaviye diyabetsiz bireylerle benzer yanıtlar verdiği gözlenmiştir (Tervonen ve ark.nın 1993). Christgau ve ark.nın 1998 yılında yaptıkları bir çalışmada ise kontrol altında olan ve olmayan diyabet hastalarının cerrahisiz periodontal tedaviye cep derinliğindeki, ataşman kaybındaki ve subgingival floradaki değişiklikler açısından diyabetsiz bireylerle benzer yanıtlar verdiği ancak kontrol altında olmayan diyabetli bireylerde, diyabetsiz bireylere göre periodontal hastalığın daha hızlı tekrarladığı gözlenmiştir (Christgau ve ark., 1998). Navarro-Sanchez ve ark.nın 2007 de yaptıkları bir çalışmada da kontrolsüz diyabet hastalarında cerrahisiz periodontal tedaviyi takiben 3. ve 6. ayda HbA1C seviyeleri kontrol edilmiş ve HbA1C seviyelerinde anlamlı bir düşme bulunmuştur (Navarro-Sanchez ve ark., 2007). Dolayısıyla diabetes mellitusun kontrolü ile de periodontal hastalık şiddeti arasında sıkı bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Bu bulgular, periodontal hastalık riski ve glisemik kontrol arasında doza bağımlı bir ilişki olduğunu desteklemektedir. Ayrıca diyabetin süresinin de anlamlı olarak artmış bir risk oluşturduğu düşünülmektedir (Tsai ve ark., 2002).

Diabetes Mellituslu bireylerde periodontal hastalığın patogeneziyle ilişkili ilk çalışmalar, bazal membran kalınlaşması ve vaskularitedeki değişiklikler üzerine yoğunlaşmıştır (Listgarten ve ark, 1974). Vasküler değişiklikler, gingival dokuda besinlerin dağıtımı ve lökositlerin migrasyonunu etkilemektedir buna bağlı olarak oksijen difüzyonu ve metabolik artıkların eliminasyonunda azalma meydana gelerek periodontitisin şiddeti artar ve yara iyileşme kapasitesi azalır. Bu vasküler değişiklikler,

zayıf metabolik kontrol ve hastalık süresinin uzamasıyla giderek daha kötü bir hal alır (Skyler, 1990) .

Hipergliseminin neden olduğu düşünülen diyabetik komplikasyonlara bozulmuş lipid metabolizmasının neden olduğu da iddia edilmektedir. Bozulmuş lipid metabolizması LDL, trigliserid ve yağ asitlerinin artmış serum seviyeleri ile karakterizedir (Cutler ve ark., 1999).

Yapılan çalışmalarda, inflamasyonun prostanoidler olarak bilinen kimyasal medyatörlerinin dişeti oluğu sıvısı seviyelerinin diyabetli bireylerde daha yüksek olduğu bulunmuştur. Salvi ve ark.nın (1998) yılında yaptıkları bir çalışmada, kontrol altında olmayan Tip 2 diyabete sahip bireyler periodontitis seviyelerine göre iki gruba ayrılmış, Tip 2 diyabetik bireylerde gingivitis veya hafif şiddette periodontitise sahip bireylerde diş eti oluğu sıvısındaki PGE2 ve IL-1 β seviyesi, orta veya şiddetli periodontitise sahip Tip 2 diyabetik bireylere göre daha düşük bulunmuştur. Ayrıca her iki gruptaki Tip 2 diyabetik bireylerde PGE2 ve IL-1 β 'nın dişeti oluğundaki seviyeleri sistemik sağlıklı bireylere göre daha yüksek bulunmuştur (Salvi ve ark.,1998). Offenbacher ve ark. (1993) yaptıkları bir çalışmada, klinik olarak sağlıklı, cep derinliği 3mm. yi geçmeyen diyabetli bireyler, daha yaygın formda periodontitise sahip, sistemik sağlıklı bireylere oranla daha yüksek dişeti oluğu sıvısı-PGE₂ değerlerine sahiptir. (Offenbacher ve ark.,1993).

Pek çok çalışma, polimorf nüveli lökositlerin (PNL) gingival ve periodontal sağlığın korunmasındaki önemli rolünü ortaya koymuştur. Diyabetli bireylerde ise PNL in azalmış fonksiyonuna rastlanmıştır. Fonksiyondaki bu bozukluk, PNL in kemotaksisi, bağlanması ve fagositözunda tanımlanmıştır (Kjersem ve ark., 1988). PNL defekti üzerine yapılan çalışmalar, bu disfonksiyonların enfeksiyona karşı bozulmuş konak rezistansına yol açtığını ortaya koymuştur (Manouchehr-Pour, 1981).

Periodontal hastalığın şiddeti, defektif kemotaksisle ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda ileri periodontitise sahip diyabetli bireyler, orta şiddette periodontitise sahip diyabetik bireylerle veya diyabetik olmayan fakat şiddetli veya orta şiddette periodontitisi olan bireylerle kıyaslandığında, bozulmuş PNL kemotaksisine sahip oldukları gözlenmiştir (Manouchehr-Pour, 1981). Ayrıca diyabet ve ileri periodontitis hikayesi olan aileler üzerinde yapılan bir çalışmada azalmış PNL kemotaksisi belirlenmiştir (McMullen ve ark., 1981). Bununla beraber diyabetik duruma

bakılmaksızın hastalıklı bölgelerdeki PNL aktivitesinin sağlıklı bölgelere göre daha az olduğu gözlenmiştir (Bissada ve ark., 1982).

Diyabetik durum nedeniyle dişeti fibroblastlarındaki bu kollajen ve glukozaminoglikan sentezindeki azalma, dişeti oluğu sıvısındaki (DOS) kollajenolitik aktiviteyi artırır. Bu durum periodontal ligament fibrillerinin ve alveolar destek kemiğin kaybına böylece dişlerde mobilite ve sonuç olarak diş kaybına neden olur. (Stewart ve ark.,2001). Kaplan ve ark.nın 1982’de yaptıkları bir çalışmada diş eti oluğu sıvısındaki kollagenaz aktivitesinin Tip 2 diyabetik bireylerde sistemik sağlıklı bireylere göre arttığı bulunmuştur (Kaplan ve ark., 1982). Sorsa ve ark. nın (1992) yaptıkları bir çalışmada ise kontrol altında olmayan diyabet hastalarında kollagenaz aktivitesinin sistemik sağlıklı bireylere göre diş eti oluğu sıvısında arttığı gözlenmiştir (Sorsa ve ark., 1992).

Salvi ve ark.nın 1997 yılında yaptıkları bir çalışmada, kontrolsüz Tip 2 diyabete sahip bireyler periodontitis seviyelerine göre iki gruba ayrılmış, Tip 2 diyabetik bireylerde gingivitis veya hafif şiddette periodontitise sahip bireylerde dişeti oluğu sıvısındaki TNF- α ve IL-1 β seviyesi, orta veya şiddetli periodontitise sahip Tip 2 diyabetik bireylere göre daha düşük bulunmuştur. Ayrıca her iki gruptaki Tip 2 diyabetik bireylerde TNF- α ve IL-1 β ’nın dişeti oluğu sıvısındaki seviyeleri sistemik sağlıklı bireylere göre daha yüksek bulunmuştur (Salvi ve ark.,1997). Navarro-Sanchez ve ark.nın 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada ise periodontitisli kontrolsüz Tip 2 diyabet hastaların ve periodontitisli sistemik sağlıklı bireylerin dişeti oluğu sıvısındaki TNF- α ve IL-1 β seviyelerini kıyaslamışlar ve anlamlı bir farklılık bulamamışlardır. Ancak periodontal tedaviyi takiben her iki grupta da her iki sitokinin dişeti oluğu sıvısındaki seviyelerinin düştüğü gözlenmiştir (Navarro-Sanchez ve ark.,2007). Engebretson ve ark.nın (2007) yaptıkları çalışmada ise yine kontrolsüz diyabet hastalarında dişeti oluğu sıvısındaki IL-1 β seviyeleri sistemik sağlıklı bireylere göre yüksek bulunmuştur (Engebretson ve ark., 2007).

AGE’ler hedef hücrelere, hücre yüzey polipeptid reseptörlerini tanıyarak etkide bulunurlar. AGE için karakterize edilmiş en iyi bağlanma alanı, immunoglobulin süper ailesinin bir üyesi olan ve AGE için reseptör veya RAGE olarak adlandırılan reseptörlerdir (Schmidt ve ark., 1996). Monositler, makrofajlar ve endotelial hücreler, AGE için yüksek afinitesi olan bu RAGE reseptörlere sahiptirler (Vlassara, 1991).

AGE, makrofaj ve monosit RAGE'lerine bağlanarak interlökin (IL) -1, insülin benzeri büyüme faktörü ve tümör nekrozis faktör (TNF) - α sekresyonunda artışa yol açan hücrel durumu indüklerken, endotelial hücrelere bağlanarak da fokal trombozis ve vazokonstriksiyona neden olan prokoagülatör değişikliklere neden olur. Diyabetik bireylerde monositler, diyabetik olmayan bireylere oranla daha fazla miktarda TNF - α , IL-1 β ve PGE₂ üretirler. Klinik olarak, periodontitisli diyabetik bireylerin dişeti oluğu sıvılarındaki IL-1 β ve PGE₂ seviyeleri, periodontitisli non - diyabetik bireylere oranla daha yüksektir (Salvi ve ark., 1997). Bu ürünlerin aşırı üretimi, ligand-reseptör ilişkisine yanıtta kollajen metabolizmasının değişikliklere katkıda bulunabilir veya aracılık edebilir. AGE tarafından modifiye edilen proteinler, insan monositleri için kemotaktiktir (Vlassara, 1991). Bu durum, inflamatuvar yanıtı arttırarak yara iyileşmesinin gecikmesine ve ayrıca bağ dokusu yıkımı ve kemik rezorbsiyonunun da indüklenmesine neden olur (Schmidt ve ark., 1996).

AGE nin formasyonu, reaktif oksijen ürünlerinin oluşumuyla sonuçlanır. AGE'nin, non- diyabetik bireylerle kıyaslandığında, diyabetik bireylerin dişeti dokularında bulunduğu ve bu dokuların oksidatif stresini arttırdığı gözlenmiştir. Bu artmış oksidatif stres, diabetik komplikasyonlarda görülen genel vasküler hasardan sorumlu olabilir (Schmidt ve ark., 1996).

NO ve iNOS'ın TipII Diyabette Yeri ve Önemi

Pek çok bulgu ile iNOS ve insülin direnci arasındaki ilişki gösterilmiştir. Bu bulgulardan birincisi iNOS en çok karaciğer (Kurrek ve ark., 1995), iskelet kası (Kapur ve ark., 1997) ve adipoz doku (Ribiera ve ark.,1996) gibi insüline duyarlı dokularda üretilmektedir. İkincisi, insülin direncinde ortaya çıkan infeksiyon (Burgner ve ark., 1999), sepsis, yangı (Paulsen ve ark, 1998), otoimmün defekt sendromu (Rafalowska, 1998), TNF- α (Bedard ve ark., 1997) ve endotoksinin (Kurrek ve ark., 1995) artmış seviyeleri gibi patolojik durumlar iNOS'ın indüklenmesiyle ilişkilidir. Üçüncüsü ise kas hücrelerinin lipopolisakkarit (LPS), TNF- α , IFN- γ ile tedavi edilmesinin iNOS ekspresyonunu indüklediği ve insülinin stimüle ettiği glukoz artışını bozduğu bilinmektedir, iNOS inhibitörü aminoguanidinin (AG) ise glukoz artışıdaki bozukluğu düzelttiği bildirilmiştir (Bedard ve ark., 1997). iNOS, L-arginin'den nitrik oksit (NO) ve

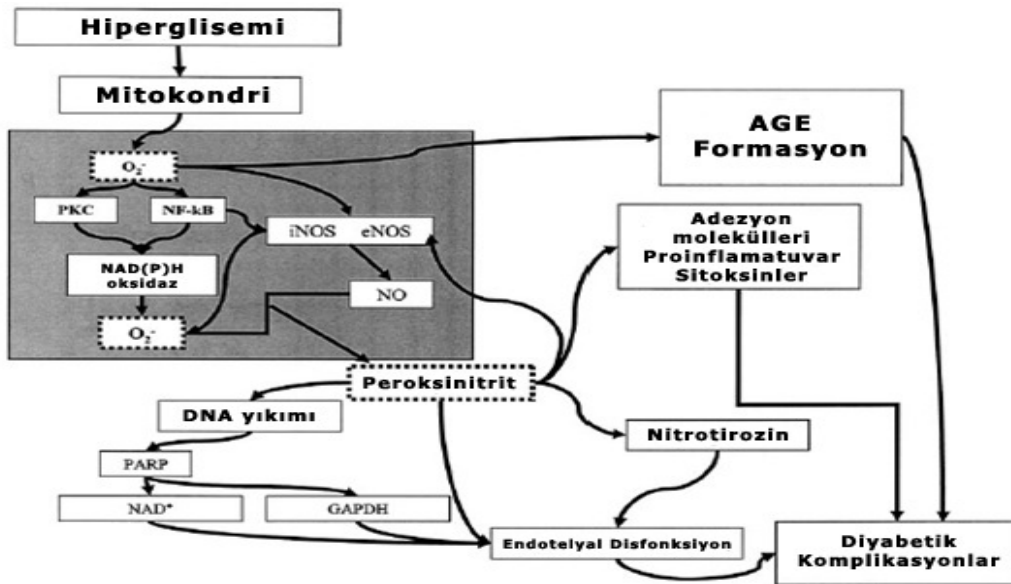
süperoksit (O_2^-) üretmektedir. Bu iki radikal de peroksinitrit anyon'un ($ONOO^-$) diffüzyon oranlarının kontrolü üzerine etkilidir. İndüklenebilir NOS'a bağımlı peroksinitrit üretiminin de aterosklerozis, hiperkolesterolemi, hipertansiyon, septik şok ve diabetes mellitus'un patofizyolojisinde etkili olduğu bilinmektedir (Klatt ve ark., 1993).

Yapılan son çalışmalar ile, trombositlerdeki NO sentezinin, trombosit aktivasyonunun düzenlenmesinde hem trombosit adezyonunu hem de trombosit trombus formasyonunu azaltarak güçlü bir düzenleyici görevi gördüğü bilinmektedir (Groves ve ark., 1995). Tannous ve ark. (1999) yaptıkları bir çalışma ile Tip I ve Tip II diyabetli bireylerin trombositlerinde NO üretiminin azaldığını görmüşlerdir bu durum da bu hücrelerin agregasyon stimülasyonuna karşı daha yüksek duyarlılıkta olmalarıyla ilişkili olabilir (Tannous ve ark, 1999). Diyabetli bireylerde NO senteziyle ilişkili trombosit disfonksiyonunu açıklayan bir diğer mekanizma da NO ve süperoksit üretimi arasındaki dengesizliktir, bu dengesizlik güçlü oksidant peroksinitritin oluşumuna öncülük eder. Diyabetik bireylerde artmış peroksinitrit üretiminin diyabetle ilişkili faktörlerin iNOS'ı indüklemesiyle olduğu düşünülmektedir (Şekil 4.). Tannous ve ark. hem Tip I hem de Tip II diyabetli bireylerin trombositlerinde iNOS'ın eksprese edildiğini bulmuşlardır. Buna karşın sağlıklı bireylerin trombositlerinde iNOS proteini eksprese edilmemektedir. Diyabetik trombositlerde artmış peroksinitrit üretimiyle beraber iNOS'ın da bulunması, iNOS'a bağımlı peroksinitrit üretiminin diyabetin patofizyolojisinde önemli bir rolünün olduğunu göstergesidir (Tannous ve ark, 1999). Skaleric ve ark. nın 2006 yılında Tip I diyabet hastalarında yaptıkları çalışmada, Tip I diyabet hastaları periodontal sağlık durumlarına göre sınıflandırılmıştır. Tip I diyabet hastalarından alınan dişeti oluğu sıvısı örneklerinde NO, dişeti örneklerinde ise iNOS ekspresyonuna bakılmıştır ve periodontal açıdan sağlıklı Tip I diyabet hastalarında dişeti oluğu sıvısı NO konsantrasyonu periodontitisli Tip I diyabet hastalarına göre daha düşük seviyede bulunmuştur. Ayrıca periodontitisli Tip I diyabet hastalarında dişetinde iNOS ekspresyonu gözlenmiş ancak periodontal açıdan sağlıklı Tip I diyabet hastalarında dişetinde iNOS ekspresyonu bulunamamıştır (Skaleric ve ark., 2006).

İnsülin rezistansının bir medyatörü olarak bilinen inhibitör κ B kinaz β (IKK β)-nuclear faktör- κ B (NF- κ B)'ün aktivasyonu, inflamatuvar yanıt için önemli bir sinyal zincirini oluşturmaktadır (Yuan ve ark., 2001). Ekspresyonu IKK β - NF- κ B tarafından

düzenlenen iNOS'ın, insülin rezistansından kaynaklı inflamasyonda düzenleyici yapılardan biri olduğu kabul edilmektedir (Xie ve Nathan, 1994). iNOS ile insülin rezistansı arasında sıkı bir ilişkinin varlığı daha önce yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. iNOS, esas olarak makrofajlarda tespit edilmesine rağmen iskelet kası, adipoz doku ve karaciğer gibi insüline duyarlı organlar da dahil olmak üzere pek çok dokuda eksprese edilmektedir. iNOS'ın ekspresyonu, proinflamatuvar sitokinler, obezite, serbest yağ asitleri, hiperglisemi, endotoksinler ve oksidatif stres gibi insülin rezistansının bazı indükleyicileri tarafından artırılmaktadır (Shimabukuro ve ark., 1998). Tirozin nitrasyon gibi iNOS ekspresyonuyla ilişkili nitrozatif protein modifikasyonları, Tip II diyabetli veya obeziteyle ilişkili diyabete sahip bireylerde plazma, iskelet kası, damar sistemi ve retinalarında artmış bulunmuştur (Frisbee ve ark., 2002).

Fujimoto ve ark. lipopolisakkarit (LPS) uygulanan ratlarda, iNOS inhibitörünün insülin rezistansını azalttığı ve hiperglisemiye önlediğini göstermişlerdir (Fujimoto ve ark., 2005). Sugita ve ark. (2001), da insülin direnci oluşturmak amacıyla LPS enjekte ettikleri ratlarda iNOS aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir (Sugita ve ark., 2001). Perreault ve Marette (2001) ise iNOS'ın eksikliğinin, yüksek yağlı diyetle bağlı insülin rezistansını önlediğini bulmuşlardır (Perreault ve Marette, 2001).



Şekil 4. Diyabetik komplikasyonların oluşumunda iNOS ve NO (http://www.medscape.com.)

3. MATERYAL - METOD

3.1. Birey

Çalışmamız için Ondokuzmayıs Üniversitesi İnsan Çalışmaları Etik Kurul Başkanlığı'na başvuruldu, 135 nolu etik kurul kararıyla etik açıdan herhangi bir sakınca olmadığına dair onay alındı. Çalışmamızın deney ve kontrol grubu, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran, yaş aralığı 35-60 yaş arasında olan, son altı ay içinde periodontal tedavi görmemiş bireylerden seçildi.

Çalışmamızın diyabet grubu, Şubat 2007-Aralık 2008 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na müracaat eden ve Tip II Diyabet teşhisi bir endokrinolog tarafından önceden konulmuş, tetkik sonuçları elinde mevcut olan ve doktor kontrolü altında olan hastalar arasından seçilmiş 80 bireyden oluşturuldu. Bu hastalar için gerekli durumlarda bir endokrinolog hekimden konsültasyon istenildi. Deney grubu hastalarında Tip II Diyabet dışında çalışmamızı etkileyecek herhangi bir sistemik hastalık bulunmamasına, diyabet ilaçlar dışında sürekli bir ilaç kullanmamasına, sigara ve alkol kullanmamasına dikkat edildi. Kontrol grubu ise Şubat 2007- Aralık 2008 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na müracaat eden 38 bireyden oluşturuldu. Bu gruba dahil edilen hastaların sistemik sağlıklı olmalarına, herhangi bir nedenle ilaç kullanmamalarına, sigara içmemelerine, alkol kullanmamalarına ve son 6 ay içinde periodontal tedavi görmemiş olmamalarına dikkat edildi.

Genel anamnezin alınmasından sonra hastalara çalışma hakkında açıklama yapılarak Tip II Diyabet ve periodontal hastalık ile bu hastalıkların birbirleri ile olan ilişkisi hakkında bilgi verildi. Periodontal muayene, değerlendirilme ve diğer tetkiklerin yapılabilmesi için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi İnsan Çalışmaları Etik Kurulu tarafından uygun bulunan "Gönüllü Hasta Onay Formu"nu okutulup imzalatıldı.

Diyabet ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi

Çalışmaya katılan her bireyin yaşı, sigara ve alkol kullanıp kullanmadığı, telefon numaraları ve adresleri kaydedildi. Sosyo-ekonomik durum belirleyicisi olarak bireylerin eğitim durumu öğrenildi. Bireyin ağız bulgularını belirlemek amacıyla fırçalama sıklıkları öğrenildi. Deney grubu hastalarının diyabet durumları HbA1c değerleri esas alınarak değerlendirildi (Rose, Genco, Mealey, Cohen, 2000). Ayrıca deney grubu hastalarının glukoz açlık, glukoz tokluk, HbA1C değerleri, diyet durumları, oral antidiyabetik veya insülin kullanım süreleri de öğrenilerek kaydedildi.

Çalışmamızın kontrol gruplarını, sistemik sağlıklı ve periodontitisli bireylerin dahil edildiği grup 1 ve hem sistemik hem de periodontal açıdan sağlıklı bireylerin dahil edildiği grup 2 oluşturdu. Diyabet gruplarımızı ise son üç ay içerisinde bakılmış olan HbA1C değeri ve periodontal sağlık durumlarına göre sınıflandırdık. HbA1C değerleri için 7 değeri sınır olarak kabul edildi ve HbA1C'si 7'nin üzerinde olan bireyler kontrol altında tutulamayan Tip II diyabetik, HbA1C düzeyleri 7'nin altında olanlar ise kontrol altında tutulabilen Tip II diyabetik bireyler olarak kabul edildi. Son üç ay içerisinde bakılmış olan HbA1C değeri 7'nin üstünde olan periodontitisli TipII diyabetik hastalar grup 3'ye alındı. HbA1C değeri 7'nin altında olan periodontitisli Tip II diyabetik hastalar grup 4'e dahil edildi. Periodontal açıdan sağlıklı Tip II diyabetik hastalar da HgA1c düzeylerine ve açlık kan şekerlerine göre iki gruba ayrıldı ve HbA1C düzeyleri 7'nin altında olanlar grup 5, HbA1C'si 7'nin üzerinde olanlar ise grup 6 olarak sınıflandırıldı. Bütün bu kriterlere göre çalışmamızı oluşturacak olan gruplar aşağıdaki şekilde sıralandı:

Grup 1: Sistemik açıdan sağlıklı ancak periodontitisli 20 hasta

Grup 2: Sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı 20 birey

Grup 3: Diyabeti kontrol altında tutulamayan (HbA1C>7) ve periodontitisli 20 hasta

Grup 4: Diyabeti kontrol altında (HbA1C<7) ve periodontitisli 20 hasta

Grup 5: Diyabeti kontrol altında (HbA1C<7) ve periodontal açıdan sağlıklı 20 hasta

Grup 6: Diyabeti kontrol altında tutulamayan (HbA1C>7) ve periodontal açıdan sağlıklı 18 hasta

3.2. Periodontal Değerlendirme

Periodontal Muayene Sırasında Yapılan Ölçümler

Tüm gruplarda yeralan hastaların, ağız içindeki tüm dişlerinin altı yüzeyine (mesio-bukkal, mid-bukkal, disto-bukkal, mesio-lingual, , mid-lingual, disto-lingual) periodontal muayenede rutin olarak uygulanan; (i) ağızdaki plak oluşumu ve birikimi derecesini ölçmek için Silness-Löe plak indeksi, (ii) dişeti inflamasyonun teşhisi için Löe-Silness gingival indeksi (Gİ), (iii) periodontal hastalığın derecesini ölçmek için cep derinliği ve ataşman seviyesi, (iv) periodontal hastalığın aktivitesini belirlemek için sondlamada kanama indeksi klinik ölçümleri uygulandı ayrıca tüm dişlerin mobilite ölçümleri de yapıldı ve kemik seviyelerini gözlemleyebilmek için rutin radyografik değerlendirmeler yapılmıştır. İşlemler rutin muayene aletleri olan periodontal sond ve dental ayna vb. ile yapılmıştır.

Tüm değerlendirme başlangıçta olmak üzere tek bir klinisyen tarafından yapıldı. Tespit edilen skorlar yardımcı kişiler tarafından formdaki ilgili yerlere kayıt edildi.

Muayene ve ölçümler 0,75 Nevton'luk kuvvet uygulanarak Williams sondası ve ağız aynası kullanılarak klinikte reflektör yardımı ile yapıldı (Van Der Velden U, 1979).

Periodontal Muayene Değerlendirme Kriterleri

Ağız hijyeni ve dişeti inflamasyonunun seviyesini değerlendirmek için Dental Plak İndeksi (Pİ) ve Löe-Silness Gingival İndeksi (Gİ) kullanıldı.

Pİ (Dental Plak İndeksi) (Silness & Löe, 1964) :

Kod 0: Diş yüzeyinin dişeti bölgesinde hiç bakteri plağı yok.

Kod 1: Göz ile dişin yüzeyinde bakteri plağı görülmemekte fakat sondalama ile sondanın ucunda bakteri plağı izlenmektedir.

Kod 2: Dişeti bölgesi ince ve orta düzeyde bakteri plağı ile kaplıdır ve

bu birikinti göz ile seçilebilmektedir.

Kod 3: Fazla miktarda yumuşak birikinti vardır ve bu birikintinin kalınlığı dişeti oluşunu tamamen doldurmuştur ve interdental bölge yumuşak debris ile doludur.

Gİ (Løe & Silness 1963,1967) :

Kod 0: Sağlıklı dişeti.

Kod 1: Hafif inflamasyon; dişeti renginde hafif değişiklik, hafif ödem, sonda ile temasta kanama yok.

Kod 2: Orta derece inflamasyon; kızarıklık, ödem ve parlaklık, sonda ile temasta kanama.

Kod 3: Şiddetli inflamasyon; belirgin kırmızılık ve ödem, ülser, kendi kendine kanamaya eğilim.

Cep derinliği, dişeti kenarından cep tabanına kadar olan mesafe olarak; epitelyal ataşman seviyesi, mine-sement sınırından (MSS) dişeti oluşu tabanına kadar olan milimetre (mm) cinsinden mesafe olarak; dişeti çekilmesi ise MSS'ndan dişeti kenarına kadar olan mesafe olarak tanımlanmıştır. Ölçümler bu tanımlara uygun olarak yapıldı. Her bir dişin 6 bölgesinden yapılan ölçümlerin ortalaması alınıp tek bir değer olarak kaydedildi.

En son olarak dişlerinin mobiliteleri değerlendirildi. Diş mobilitelerini kaydetmek için Mobilite İndeksi (Miller) kullanıldı (Miller, 1950).

0: Fiziyojik mobilite (0.2 mm veya daha az)

1: Dişin kuronunun horizontal yönde 0,2-1mm hareketliliği

2: Dişin kuronunun horizontal yönde 1mm den fazla hareketliliği

3: Dişin kuronunun horizontal yöndeki hareketliliğinin yanı sıra vertikal yönde hareketliliği.

3.3.Radyografik Değerlendirme

Çalışmamıza dahil olan hastalardan paralel teknik yöntemiyle tüm ağızdan alınan radyograflarda kemik seviyesi, mine-sement sınırı ile kret tepesi arasındaki mesafe ölçülerek değerlendirildi. 3mm. üstü kemik kayıpları, gingival indeks ve cep

derinlikleri de göz önünde bulundurularak periodontitis olarak kabul edildi (Regan ve Mitchell 1963).

3.4. Dişeti Örneklerinin Toplanması

Çalışmamıza dahil olan grup 1,3,4,5 ve 6 hastalarından periodontal enflamasyon görülen bölgelerde en derin periodontal cebe sahip olan dişin sulkuler bölgesindeki, grup 2’de ise çekim endikasyonu konmuş yirmi yaş bölgesindeki yapışik dişetinden yaklaşık 2x1mm boyutlarında yarım kalınlıklı dişeti biyopsisi alındı. Biyopsi öncesi bölgenin anestezisi, Jetokain marka anesteziik solüsyonun uygulanması ile sağlandı. Elde edilen örnekler, laboratuvar işlemlerine kadar 0,1 molarlık sükröz çözeltisi içinde -80°C’de saklanmıştır.

3.5. Diş eti Örneklerinin Homojenizasyonu

Çalışma ve kontrol grubu bireylerinden toplanan diş eti biopsi örnekleri Sartorius marka hassas terazide tartılarak standardize edildi. Tartılan örnekler, homojenizasyon amacıyla tüpler içinde yeralan pH’ı 7.2-7.4 arasında olan (+4°C) fosfat tampon içine alınarak küçük parçalara ayrıldı. Parçalara ayırma işlemini takiben Sonics Vibra Cell Marka (CV18 Model) homojenizatör cihazı ile her numune 80 saniye süre ile homojenize edilmiştir. Bu 80 saniyelik homojenizasyon, 20 şer saniyelik 4 periyot halinde gerçekleştirilmiş olup her periyot arasında 10 saniyelik bekleme süresi mevcuttur. Elde edilen homojenatlar, freeze-thawing işlemini takiben Kubota 3500 marka santrifüj cihazında (15000rpm x 15dk.), +4°C’de santrifüje edildi. Son ürün olarak elde edilen süpernatantlar ELISA kitleri uygulanıncaya kadar -80°C’de saklandı (Sakallıoğlu E.E, 2007). Tüm bu homojenizasyon ve santrifüjasyon işlemleri O.M.Ü Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Departmanı’nda gerçekleştirildi.

3.6. ELISA Kitlerinin Uygulanması

Homojenizasyon işlemi sonucu elde edilen süpernatantlardaki IL-1 β , PGE₂, TNF- α , IFN- γ ve iNOS konsantrasyonları, ELISA yöntemiyle tespit edildi. TNF- α ve IFN- γ için Biosource marka, IL-1 β için İnvitrogen marka, PGE₂ için ACE marka ve iNOS için ise Quantikine marka ELISA kitleri kullanıldı. ELISA prosedürleri, kit protokollerinde belirtildiği şekilde uygulandı. Bu işlemler, O.M.Ü Tıp Fakültesi Seroloji ve ELISA laboratuvarında gerçekleştirildi.

Elde edilen konsantrasyon değerleri, her biopsinin gramaj değerlerine göre yeniden hesaplanarak istatistiksel olarak değerlendirilmeye hazır hale getirildi.

3.7. İstatikse Analizler

Anova Testi ile elde edilen verilerin gruplar arasındaki farklılıkları araştırıldı. Gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu tespit edildi. Grup içi ve gruplar arası değerlendirilmelerin yapılabilmesi amacıyla Post Hoc Tukey Testi ve Kruskal Wallis varyans analizi kullanıldı. Veriler, ortalama ve \pm standart hata olarak verildi.

4. BULGULAR:

Çalışmamızda, periodontal sağlık durumlarına göre sınıflandırılan sistemik sağlıklı 40 kontrol grubu hastası, HgA1C değerleri ve periodontal sağlık durumlarına göre gruplandırılan Tip II diyabetik 78 deney grubu hastasına ait diş eti örneklerinin homojenizasyonu ile elde edilen süpernatantlar kullanıldı. Bu süpernatantlara ELISA testleri uygulanarak IL-1 β , PGE₂, TNF- α , IFN- γ ve iNOS konsantrasyonları tespit edildi. IL-1 β , PGE₂, TNF- α , IFN- γ ve iNOS konsantrasyonlarının TipII diyabet ve periodontal hastalık durumlarındaki farklılıkları tespit edilmeye çalışıldı.

4.1. Klinik Bulgular

Çalışmamıza dahil edilen hastaların yaş ortalamaları ve klinik muayeneleri ile elde edilen cep derinliği, ataşman seviyesi, gingival indeks, plak indeks değerlerinin ve HbA1C değerlerinin ortalamaları (ort) ve standart sapmaları (ss), Tablo 1. de gösterildi.

Tablo 1. Gruplara ait yaş, HbA1C, cep derinliği (CD), ataşman seviyesi (AS), plak indeksi (PI), gingival indeksi (GI) değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları.

	Yaş (ort \pm ss)	HbA1C (ort \pm ss)	CD (mm) (ort \pm ss)	AS (mm) (ort \pm ss)	PI (ort \pm ss)	GI (ort \pm ss)
Grup 1	46,16 \pm 5,12	-	5,28 \pm 1,44	6,42 \pm 2,38	2,81 \pm 0,87	1,32 \pm 0,62
Grup 2	35,17 \pm 6,42	-	2,31 \pm 0,68	3,1 \pm 1,12	1,28 \pm 0,63	0,97 \pm 0,41
Grup 3	48,02 \pm 6,67	8,26 \pm 1,12	4,26 \pm 1,72	4,51 \pm 1,89	2,96 \pm 0,49	1,8 \pm 0,59
Grup 4	42,23 \pm 7,51	5,96 \pm 0,88	3,83 \pm 0,92	4,07 \pm 1,74	2,43 \pm 0,72	1,67 \pm 0,52
Grup 5	39,48 \pm 5,89	5,72 \pm 0,59	2,33 \pm 0,47	3,17 \pm 1,23	1,12 \pm 0,39	1,16 \pm 0,48
Grup 6	40,75 \pm 4,92	8,02 \pm 1,17	2,28 \pm 0,56	3,08 \pm 1,16	1,35 \pm 0,52	1,14 \pm 0,39

4.2 Dokulardaki IL-1 β , PGE₂, TNF- α , IFN- γ ve iNOS konsantrasyon seviyelerine ait bulgular

Elde edilen konsantrasyon seviyeleri değerlendirildiğinde, en yüksek PGE₂ konsantrasyon seviyesinin Grup 4'e (44,15 \pm 12,96 pg/ml), en yüksek IL-1 β seviyesinin Grup 1'e (38,83 \pm 9,66 pg/ml), en yüksek TNF- α konsantrasyon seviyesinin Grup 3'e (11,16 \pm 4,68 pg/ml), en yüksek iNOS seviyesinin Grup 3'e (99,23 \pm 33,24) ve son olarak en yüksek IFN- γ konsantrasyon seviyesinin de yine Grup 3'e (59,01 \pm 11,26 pg/ml) ait olduğu belirlendi. Gruplara ait konsantrasyon seviyelerinin ortalama değerleri ve standart sapmaları Tablo 2. de gösterildi.

Tablo 2. Gruplara ait IL-1 β , PGE₂, TNF- α , IFN- γ ve iNOS konsantrasyon seviyelerinin ortalama değerleri.

	PGE₂ (pg/ml) (ort \pm ss)	IL-1β (pg/ml) (ort \pm ss)	TNF-α (pg/ml) (ort \pm ss)	iNOS (pg/ml) (ort \pm ss)	IFN-γ (pg/ml) (ort \pm ss)
Grup 1	43,49 \pm 17,63	38,83 \pm 9,66	2,75 \pm 1,43	77,31 \pm 21,51	41,80 \pm 12,24
Grup 2	22,44 \pm 5,59	4,72 \pm 1,22	0,52 \pm 0,24	24,95 \pm 9,01	18,58 \pm 5,15
Grup 3	41,19 \pm 14,65	35,02 \pm 10,62	11,16 \pm 4,68	99,23 \pm 33,24	59,01 \pm 11,26
Grup 4	44,15 \pm 12,96	18,04 \pm 6,43	2,19 \pm 1,29	71,29 \pm 13,52	45,57 \pm 12,12
Grup 5	32,82 \pm 9,67	4,59 \pm 1,95	0,51 \pm 0,29	27,42 \pm 10,82	13,76 \pm 3,99
Grup 6	32,39 \pm 7,49	10,14 \pm 4,03	1,02 \pm 0,59	47,98 \pm 17,83	17,60 \pm 4,44
p değeri	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
F değeri	9,007	99,794	75,076	46,086	82,971

PGE₂ konsantrasyon seviyeleri değerlendirildiğinde, Grup 2 ile Grup 1 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü (p=0.000). Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi (p=0.000). Grup 2 ile Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (p=0.000). Grup 6 ile Grup 4 arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu gösterildi (p=0.041). Grup 2, Grup 5 ve Grup 6'nın konsantrasyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı tespit edildi (p=0.097). Grup 1, Grup 3, Grup5 ve Grup 6 arasında da

istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0.062$). Grup 1, Grup3, Grup 4 ve Grup 5 arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı gösterildi ($p=0.053$). PGE₂ konsantrasyon değerleri için gruplar arası ilişki Tablo.3' de gösterildi. Grup1, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'ya ait PGE₂ konsantrasyon değerlerinin Grup 2'ye göre dağılımı Şekil 5'te gösterildi. Grup1, Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 6'ya ait PGE₂ konsantrasyon değerlerinin Grup 5'ye göre dağılımı Şekil 6'da gösterildi.

Tablo 3. PGE₂ konsantrasyon değerleri için gruplar arası ilişki.

Gruplar	PGE ₂ konsantrasyon değerleri (pg/ml)		
Grup 2	22,4411 ^{b*}		
Grup 6	32,3961 ^{b+}	32,3961 ^b	
Grup 5	32,8275	32,8275	32,8275
Grup 3		41,1920 ^{a*}	41,1920 ^{a*}
Grup 1		43,4984 ^{a*}	43,4984 ^{a*}
Grup 4			44,1510 ^{abc*+}

Post-Hoc Tukey Testi

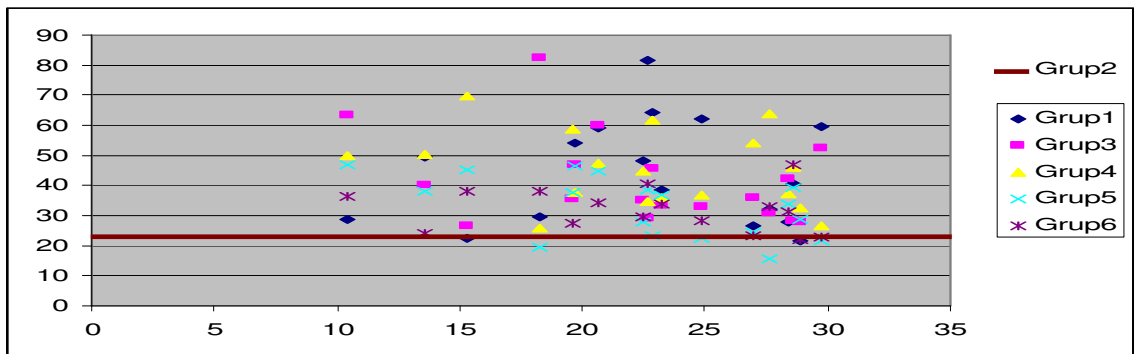
^a Grup 2'ye göre istatistiksel anlamlı farklılık var.

* ($p=0.000$)

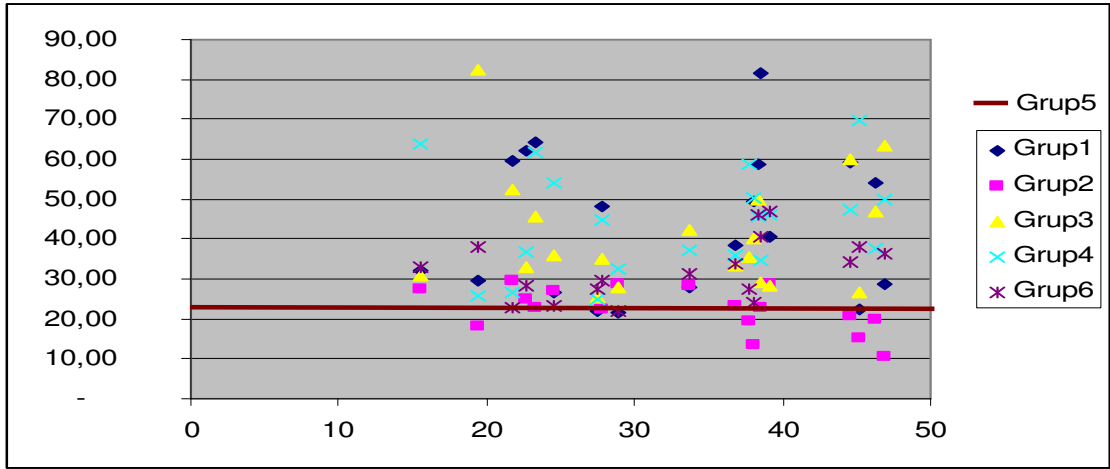
^b Grup 4' e göre istatistiksel anlamlı farklılık var.

+ ($p=0.041$)

^c Grup 6'ya göre istatistiksel anlamlı farklılık var.



Şekil 5. Grup1, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'ya ait PGE₂ konsantrasyon değerlerinin Grup 2'ye göre dağılımı.



Şekil 6. Grup1, Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 6'ya ait PGE₂ konsantrasyon değerlerinin Grup 5'e göre dağılımı.

IL-1 β konsantrasyon seviyeleri değerlendirildiğinde, Grup 1 ile Grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p=0.000$). Grup 1 ile Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.000$). Grup 1 ile Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 1 ile Grup 6 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0.000$). Grup 2 ile Grup 3 arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu gösterildi ($p=0.000$). Grup 2 ile Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p=0.000$). Grup 3 ile Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.000$). Grup 3 ile Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 3 ile Grup 6 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0.000$). Grup 4 ile Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.000$). Grup 4 ile Grup 6 arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu gösterildi ($p=0.006$). Grup 2, Grup 5 ve Grup 6'nın konsantrasyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı tespit edildi ($p=0.109$). Grup 1 ve Grup 3 arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0.491$). IL-1 β konsantrasyon değerleri için gruplar arası ilişki Tablo 4.'de gösterildi. Grup1, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'ya ait IL-1 β konsantrasyon değerlerinin Grup 2'ye göre dağılımı Şekil 7'de gösterildi. Grup1, Grup

2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 6'ya ait IL-1 β konsantrasyon değerlerinin Grup 5'ye göre dağılımı Şekil 8'de gösterildi.

Tablo 4. IL-1 β konsantrasyon değerleri için gruplar arası ilişki.

Gruplar	IL-1 β konsantrasyon değerleri (pg/ml)		
Grup 5	4,5900 ^{acd*}		
Grup 2	4,7235 ^{acd*}		
Grup 6	10,1489 ^{acd*+}		
Grup 4		18,0410 ^{abcet*+}	
Grup 3			35,0290 ^{bdef*}
Grup 1			38,8300 ^{bdef*}

Post-Hoc Tukey Testi

^a Grup 1'e göre istatiksels anlamlı farklılık var

* (p=0.000)

^b Grup 2'ye göre istatiksels anlamlı farklılık var

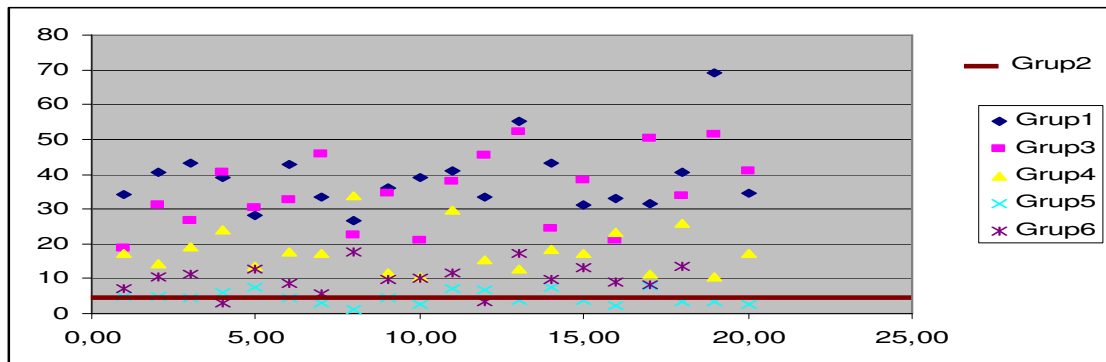
+ (p=0.006)

^c Grup 3'e göre istatiksels anlamlı farklılık var .

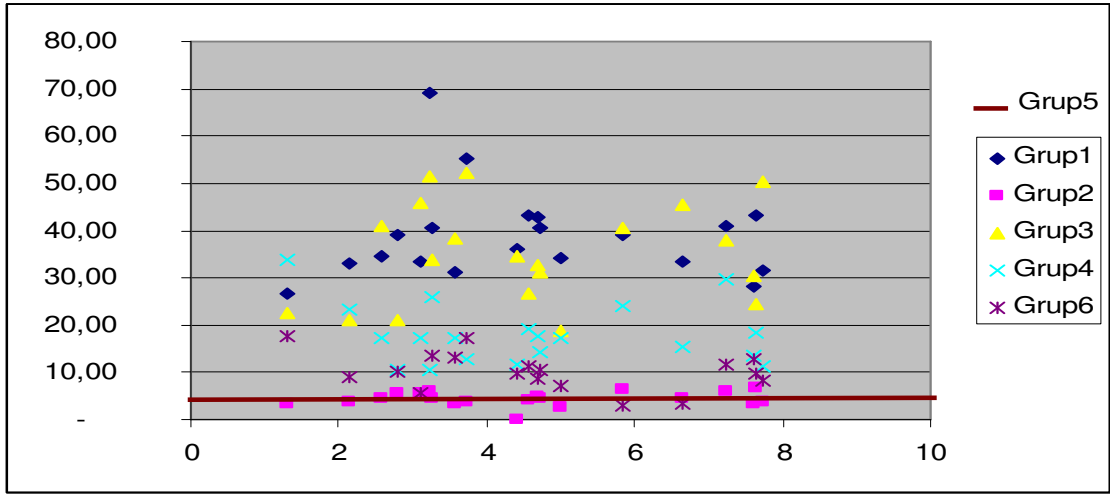
^d Grup 4'e göre istatiksels anlamlı farklılık var.

^e Grup 5'egre istatiksels anlamlı farklılık var.

^f Grup 6'ya göre istatiksels anlamlı farklılık var.



Şekil 7. Grup1, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'ya ait IL-1 β konsantrasyon değerlerinin Grup 2'ye göre dağılımı.



Şekil 8. Şekil Grup1, Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 6'ya ait IL-1 β konsantrasyon değerlerinin Grup 5'e göre dağılımı.

TNF- α konsantrasyon seviyeleri değerlendirildiğinde, Grup 1 ile Grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p=0.013$). Grup 1 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.000$). Grup 1 ile Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.013$). Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0.000$). Grup 3 ile Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.000$). Grup 3 ile Grup 5 arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu gösterildi ($p=0.000$). Grup 3 ile Grup 6 arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p=0.000$). Grup 2, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın konsantrasyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı tespit edildi ($p=0.134$). Grup 1 ve Grup 4 ve Grup 6 arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0.109$). TNF- α konsantrasyon değerleri için gruplar arası ilişki Tablo 5.'de gösterildi. Grup1, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'ya ait TNF- α konsantrasyon değerlerinin Grup 2'ye göre dağılımı Şekil 9'da gösterildi. Grup1, Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 6'ya ait konsantrasyon TNF- α değerlerinin Grup 5'ye göre dağılımı Şekil 10'da gösterildi.

Tablo 5. TNF- α konsantrasyon değerleri için gruplar arası ilişki.

Gruplar	TNF- α konsantrasyon değerleri (pg/ml)		
Grup 5	0,5190 ^{ac*+}		
Grup 2	0,5215 ^{ac*+}		
Grup 6	1,0200 ^{c*}	1,0200 ^{c*}	
Grup 4	2,1965 ^{c*}	2,1965 ^{c*}	
Grup 1		2,7570 ^{bcd*+}	
Grup 3			11,1660 ^{abd*}

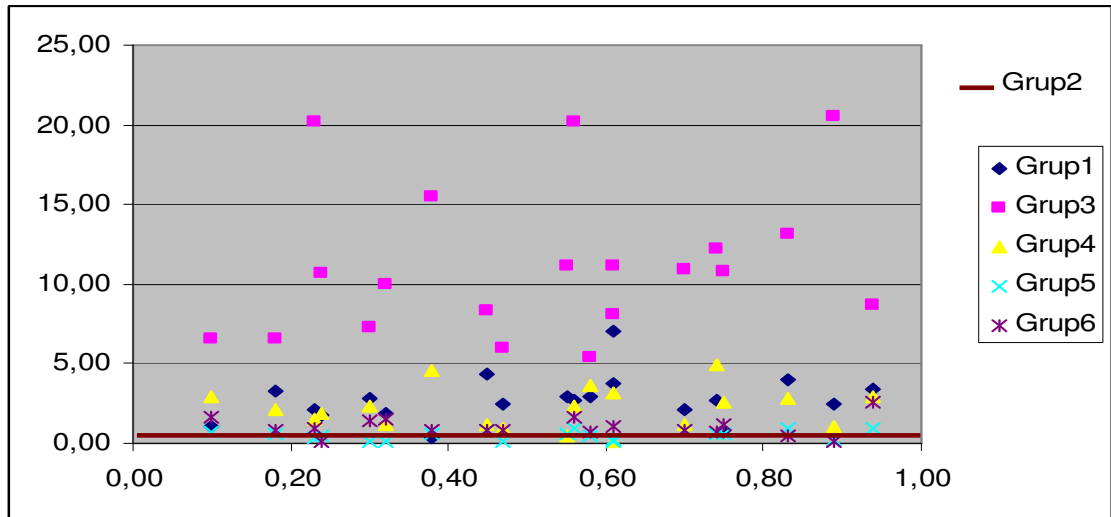
Post-Hoc Tukey Testi

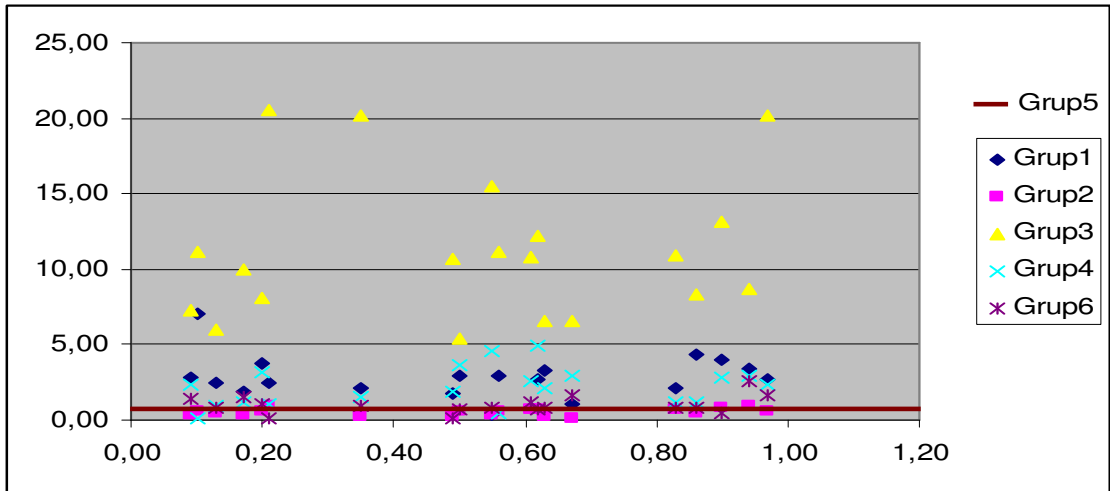
^a Grup 1'e göre istatiksels anlamlı farklılık var.

* (p=0.000)

^b Grup 2'e göre istatiksels anlamlı farklılık var.

+ (p=0.013)

^c Grup 3'e göre istatiksels anlamlı farklılık var.^d Grup 5'e göre istatiksels anlamlı farklılık var.**Şekil 9.** Grup1, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'ya ait TNF- α konsantrasyon değerlerinin Grup 2'ye göre dağılımı.



Şekil 10. Grup1, Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 6'ya ait konsantrasyon TNF- α değerlerinin Grup 5'e göre dağılımı.

iNOS konsantrasyon seviyeleri değerlendirildiğinde, Grup 1 ile Grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p=0.000$). Grup 1 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.007$). Grup 1 ile Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 1 ile Grup 6 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0.000$). Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.000$). Grup 2 ile Grup 4 arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu gösterildi ($p=0.000$). Grup 2 ile Grup 6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p=0.005$). Grup 3 ile Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.000$). Grup 3 ile Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 3 ile Grup 6 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0.000$). Grup 4 ile Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.000$). Grup 4 ile Grup 6 arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu gösterildi ($p=0.005$). Grup 5 ile Grup 6 arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.019$). Grup 2 ve Grup 5'in konsantrasyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı tespit edildi ($p=0.999$). Grup 1 ve Grup 4 arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0.927$). iNOS konsantrasyon değerleri için gruplar arası ilişki Tablo 6.'de gösterildi. Grup1, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'ya ait iNOS konsantrasyon değerlerinin Grup 2'ye göre dağılımı Şekil 11'de gösterildi. Grup1, Grup 2, Grup 3,

Grup 4 ve Grup 6'ya ait konsantrasyon iNOS değerlerinin Grup 5'ye göre dağılımı Şekil 12'de gösterildi

Tablo 6. iNOS konsantrasyon değerleri için gruplar arası ilişki.

Gruplar	iNOS konsantrasyon değerleri (pg/ml)			
Grup 2	24,9550 ^{acdf**†}			
Grup 5	27,4295 ^{acdf**‡}			
Grup 6		47,9706 ^{abcde**†‡}		
Grup 4			71,2925 ^{bcef**†}	
Grup 1			77,3105 ^{bcef**+}	
Grup 3				99,2305 ^{abdef**+}

Post-Hoc Tukey Testi

^a Grup 1'e göre istatistiksel anlamlı farklılık var.

* (p=0.000)

^b Grup 2'ye göre istatistiksel anlamlı farklılık var.

+ (p=0.007)

^c Grup 3'e göre istatistiksel anlamlı farklılık var.

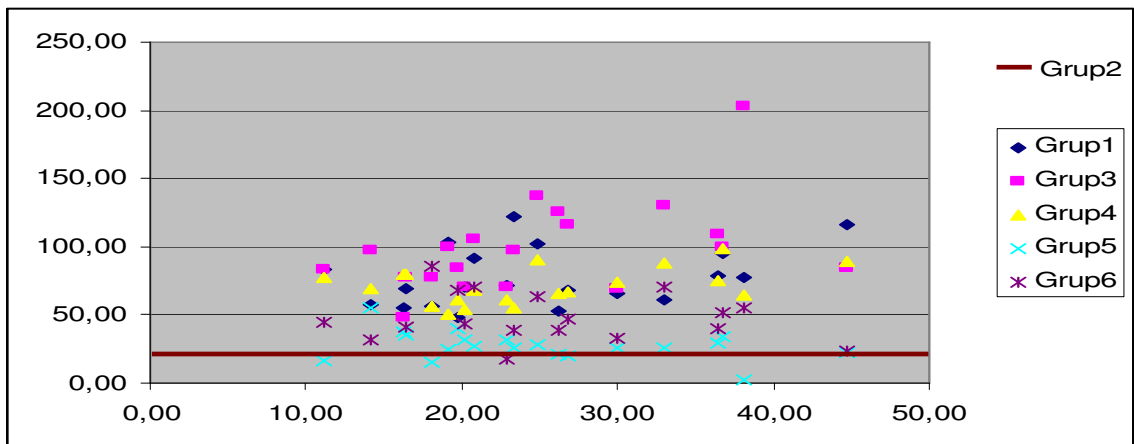
† (p=0.005)

^d Grup 4'e göre istatistiksel anlamlı farklılık var.

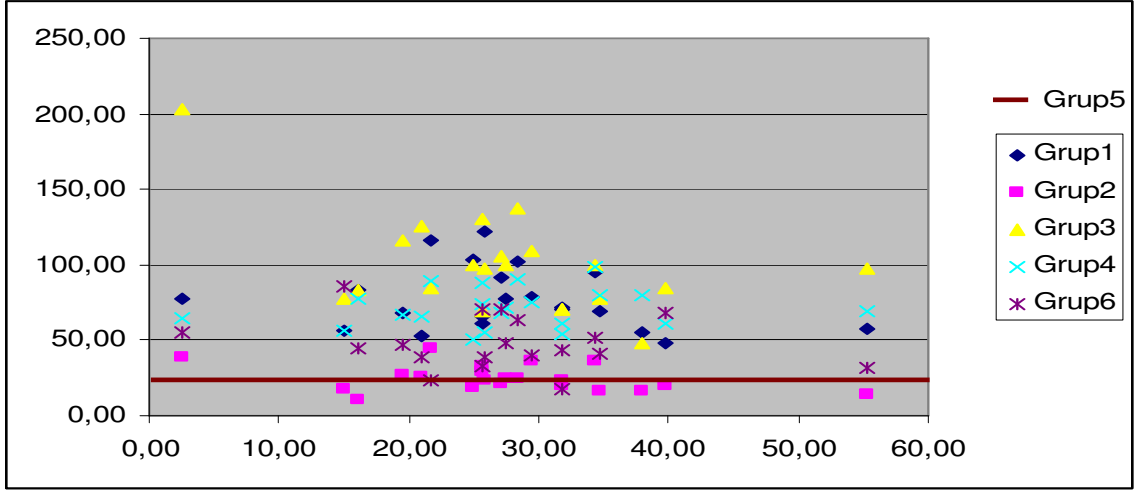
‡ (p=0.019)

^e Grup 5'e göre istatistiksel anlamlı farklılık var.

^f Grup 6'ya göre istatistiksel anlamlı farklılık var.



Şekil 11. Grup1, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'ya ait iNOS konsantrasyon değerlerinin Grup 2'ye göre dağılımı.



Şekil 12. Grup1, Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 6'ya ait konsantrasyon iNOS değerlerinin Grup 5'e göre dağılımı.

IFN- γ konsantrasyon seviyeleri değerlendirildiğinde, Grup 1 ile Grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p=0.000$). Grup 1 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.000$). Grup 1 ile Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 1 ile Grup 6 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0.000$). Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.000$). Grup 2 ile Grup 4 arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu gösterildi ($p=0.000$). Grup 3 ile Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü. Grup 3 ile Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.000$). Grup 3 ile Grup 6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 4 ile Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0.000$). Grup 4 ile Grup 6 arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p=0.000$). Grup 2, Grup 5 ve Grup 6'nın konsantrasyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı tespit edildi ($p=0.555$). Grup 1 ve Grup 4 arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0.783$). IFN- γ konsantrasyon değerleri için gruplar arası ilişki Tablo 7.'de gösterildi. Grup1, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'ya ait iNOS konsantrasyon değerlerinin Grup 2'ye göre dağılımı Şekil 13'de gösterildi. Grup1, Grup 2, Grup 3,

Grup 4 ve Grup 6'ya ait IFN- γ konsantrasyon değerlerinin Grup 5'ye göre dağılımı Şekil 14'de gösterildi.

Tablo 7. IFN- γ konsantrasyon değerleri için gruplar arası ilişki.

Gruplar	IFN- γ konsantrasyon değerleri (pg/ml)		
Grup 5	13,7605 ^{acd*}		
Grup 6	17,6056 ^{acd*}		
Grup 2	18,5870 ^{acd*}		
Grup 1		41,8090 ^{bcef*}	
Grup 4		45,5780 ^{bcef*}	
Grup 3			59,0180 ^{abdef*}

Post-Hoc Tukey Testi

^a Grup 1'e göre istatistiksel anlamlı farklılık var.

* (p=0.000)

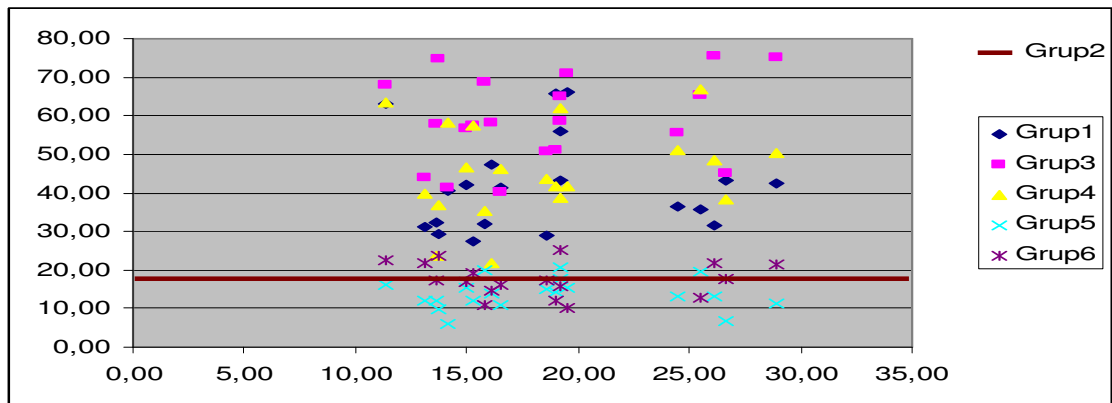
^b Grup 2'ye göre istatistiksel anlamlı farklılık var.

^c Grup 3'e göre istatistiksel anlamlı farklılık var.

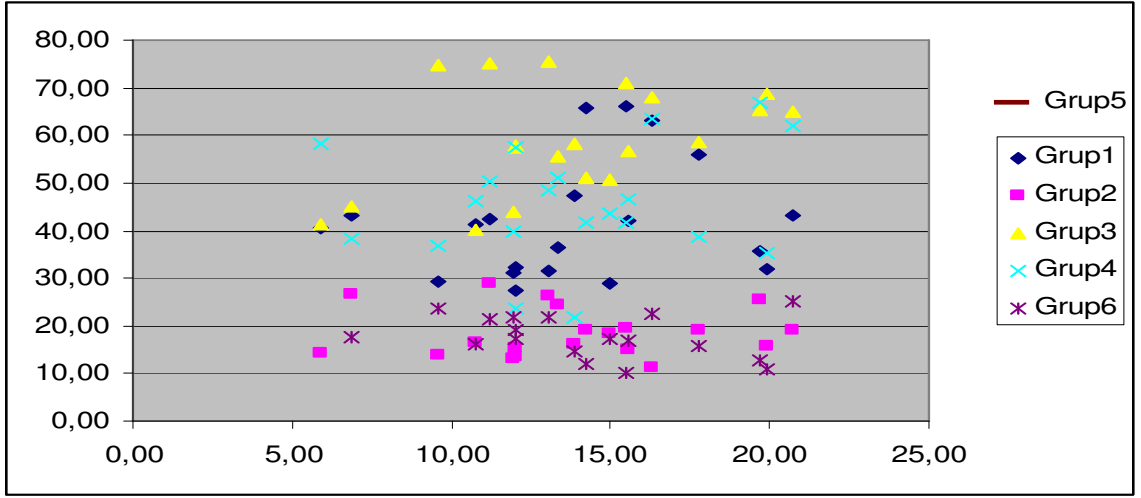
^d Grup 4'e göre istatistiksel anlamlı farklılık var.

^e Grup 5'e göre istatistiksel anlamlı farklılık var.

^f Grup 6'ya göre istatistiksel anlamlı farklılık var.



Şekil 13. Grup 1, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'ya ait iNOS konsantrasyon değerlerinin Grup 2'ye göre dağılımı.



Şekil 14. Grup1, Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 6'ya ait IFN- γ konsantrasyon değerlerinin Grup 5'e göre dağılımı.

5. TARTIŞMA:

Dünya Sağlık örgütünün periodontitis hakkındaki tanımı şu şekildedir; “konak doku savunma sistemlerinin başedemediği ölçüde bakteri ve bakteri ürünlerinin direkt veya indirekt etki mekanizmaları yoluyla akut ve/veya kronik bir seyir göstererek yumuşak ve sert diş ve çevre dokularının kaybına neden olan, duraklama dönemlerinin yanı sıra yıkımın ve yeniden oluşumun izlenebildiği enfeksiyöz karakterde bir hastalıktır (WHO,1987). Periodontal hastalıklar, Loe tarafından diyabetin altıncı komplikasyonu olarak tanımlanmıştır (Loe, 1993). Diyabet ve periodontal hastalıklar arasındaki ilişki pek çok epidemiyolojik çalışma ile açıklanmaya çalışılmıştır. Periodontal problemi olan hastalar arasında diyabetin görülme oranı yaklaşık % 4 olarak bildirilmiştir (Brasher ve Rees, 1974; Peacock ve Carson, 1995). Tip II diyabet hastalarında periodontal hastalıkların görülme insidansının ise sistemik sağlıklı bireylere oranla yaklaşık üç kat fazla olduğu bulunmuştur (Tsai ve ark., 2000). Pek çok çalışma ile diyabetik hastalarda periodontal hastalığın şiddeti ve prevalansının diyabetik olmayan bireylere oranla daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Shlossman ve ark., 1990; Emrich ve ark., 1991; Katz ve ark., 1991). Diyabetik bireylerin periodontal dokularda AGE'nin artması ile DOS'ta IL-1 β , TNF- α ve PGE₂ seviyesinin artış gösterdiği bildirilmiştir. Özellikle metabolik kontrolü zayıf olan diyabetik bireylerde, bu sitokinlerin seviyesinin artması, periodontal hastalığın daha da şiddetli olmasına sebep olmaktadır. Diyabetik hastalarda metabolik kontrol oldukça değişkendir ve kontrolsüz veya zayıf kontrollü diyabetin periodontitisin oluşumuyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Saftkan-Seppälä ve Ainamo, 1992). Seppälä ve ark.(1993), kontrolsüz Tip II diyabet hastalarında kontrol altındaki Tip II diyabet hastalarına göre daha fazla ataşman ve alveolar kemik kaybı olduğunu göstermişlerdir (Seppälä ve ark. 1993). Tervonen ve Oliver ise yine 1993 yılında yaptıkları çalışmaları ile zayıf metabolik kontrollü bireylerde, metabolik kontrollü tip II diyabetlilere göre derin cep prevalansı ve ataşman kaybında artış olduğunu bulmuşlardır (Tervonen ve Oliver, 1993). Yapılan çalışmalarla diyabetik hastalardan izole edilen monositlerde LPS lere yanıtta PGE₂, IL-1 β , IFN- γ ve TNF- α gibi inflamatuvar medyatörlerin aşırı miktarlarda salınımları gözlenmiştir (Molvig ve ark., 1988; Santamaria ve ark., 1989; Pociot ve ark., 1991). Sitokinler, immun yanıtın önemli medyatörlerindedir (Mandrup-Poulsen ve ark., 1993). İnterlökin1 β (IL-1 β), tümör nekrozis faktör α (TNF- α) gibi sitokinlerin kemik

rezorbsiyonunu stimüle ettiği (Gowen ve ark., 1983; Stashenko ve ark., 1987) ve kemik formasyonunu inhibe ettiği (Bertolini ve ark., 1986; Stashenko ve ark., 1987) bilinmektedir. Bu medyatörlerin ayrıca prostaglandin sentezini de stimüle ettiği bildirilmiştir (Tatakis ve ark., 1988). Diyabetli bireylerde monosit sitokin sekreter fenotipi değişmektedir (Molvig, 1992). Sitokinlerin pankreatik β hücreleri üzerindeki direkt etkileri nedeniyle diyabetin patogenezinde de önemli role sahip oldukları düşünülmektedir (Mandrup-Poulsen ve ark., 1993). Tannous ve ark.nın 1999 yılında yaptıkları çalışmada Tip 2 diyabetli bireylerin trombositlerinde iNOS'ın ve iNOS tarafından üretilen peroksinitrit miktarlarında artış bulunmuştur. Bu nedenle de iNOS'a bağımlı peroksinitrit üretiminin de diyabetin patofizyolojisinde etkili olduğu düşünülmektedir (Tannous ve ark., 1999). iNOS'ın lipopolisakkarit (LPS) ve sitokinler gibi inflamatuvar stimuluslara yanıtta indüklendiği bilinmektedir (Wong ve ark., 1995). Niemann ve ark. (1994) insülin üreten pankreatik hücrelerde IL-1 β , IFN- γ ve TNF- α 'nın iNOS ekspresyonunu arttırdıklarını bildirmişlerdir (Niemann ve ark., 1994).

Metabolik kontrolü zayıf diyabetiklerde, kontrollü diyabetik bireylere göre daha fazla periodontitis görüldüğü pek çok çalışma ile ortaya konmuştur (Tervonen ve ark., 1986; Seppälä ve ark., 1994). Zayıf metabolik kontrolün, diyabetik periodontitisteki doku yıkımından sorumlu olduğu düşünülen oksidatif stres, glikolizasyon son ürünü (AGE) ve immun yanıtın artışına sebep olduğu bilinmektedir (Mealey B.L., 2006). Dokularda AGE'nin artması ile P.gingivalis'e olan cevap ve alveoler kemik kaybında da daha fazla artış görüldüğü bildirilmiştir (Schmidt ve ark., 1996). Ayrıca kemotaksis, fagositoz, sitokin üretimi ve sekresyonu gibi normal hücre fonksiyonlarının da hiperglisemiden etkilendiği düşünülmektedir (Mealey B.L., 2006). Ancak bazı diyabetik bireylerde, metabolik kontrol iyi olduğu halde periodontal problemlerin gözlemlendiği bildirilmiştir (Tervonen ve Knuuttila, 1986; Seppälä ve Ainamo, 1994). Bu veriler doğrultusunda diyabetin indüklediği bazı metabolik değişikliklerin periodontal yıkıma karşı konak direncini azalttığı ve konak yanıtında diyabetin indüklediği bu metabolik değişikliklerin glisemik kontrol ile geri dönüştürülemeyeceği düşünülmektedir (Tervonen ve Knuuttila, 1986; Seppälä ve Ainamo, 1994). Bu bulgular ışığında metabolik kontrolün inflamasyon üzerine etkili olduğu noktasından hareketle çalışmamıza katılan Tip II diyabet hastaları, metabolik kontrol durumları dikkate alınarak gruplandırıldı. Hastalarımızın glisemik kontrol

seviyelerinin değerlendirilmesi amacıyla, son üç aylık glikolize hemoglobin seviyesini gösteren hemoglobin A1C (HbA1C) testini kullanıldı. HbA1C seviyelerinde 7 değeri sınır olarak kabul edildi (Cole ve ark., 2008). HbA1C değerleri \leq %7 olan hastalar kontrollü, $>$ %7 olan bireyler ise kontrolsüz diyabet gruplarına dahil edildi. HbA1C seviyelerine göre gruplandırılan hastalar ayrıca periodontal durumlarına göre de sınıflandırıldı. Diyabet grubu hastalarımızdan elde ettiğimiz verileri daha iyi değerlendirebilmek amacıyla çalışmamıza sistemik sağlıklı hastalardan oluşan kontrol grubu dahil edildi. Çalışmamızın kontrol grubu hastaları da periodontal sağlık durumlarına göre iki gruba ayrıldı (Cutler ve ark., 1999).

Diyabet ve kontrol grubu hastalarında PGE₂, IL-1 β , IFN- γ ve TNF- α gibi inflamatuvar medyatörlerin ve iNOS'ın miktarlarının belirlenebilmesi amacıyla hastalarımızdan diş eti örneği toplandı. Bu medyatörlerin miktarının tayini diş eti oluğu sıvısında da yapılabilmektedir (Salvi ve ark., 1997). Etkili bir yöntem olmasına karşın hastalardan toplanabilecek dişeti oluğu sıvısı miktarı sınırlıdır ve elde edilen dişeti oluğu sıvısı medyatörlerin tümünün miktarının belirlenmesinde yetersiz kalabilmektedir (Cole ve ark., 2008). PGE₂, IL-1 β , IFN- γ ve TNF- α gibi inflamatuvar medyatörlerin ve iNOS'ın miktarlarının belirlenebilmesi amacıyla elde edilen dişeti örneklerine ELISA testleri uygulandı. ELISA, diğer immunohistokimyasal yöntemlere göre daha pratiktir ve daha objektif veriler elde edilmesini sağlar (Kardeşler ve ark., 2008).

Bu çalışmadaki amacımız, kontrollü ve kontrolsüz Tip 2 diyabet hastalarına ait, kronik periodontitisli ve sağlıklı bölgelerden alınan dişeti biopsi örneklerinde PGE₂, IL-1 β , IFN- γ ve TNF- α gibi inflamatuvar medyatörlerin ve iNOS'ın miktarlarını belirleyerek iNOS'ın, Tip 2 diyabetli bireylerin periodontal dokularında inflamatuvar cevaptaki yeri ve önemini incelemektir.

Çalışmamızda sistemik sağlıklı periodontitisli bireylerin diş eti örneklerindeki PGE₂ konsantrasyonları, sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre daha yüksek bulundu. Periodontitisli bireylerin diş eti oluğu sıvılarındaki PGE₂ konsantrasyonlarının sağlıklı bireylere göre yüksek olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur (Offenbacher ve ark., 1986, 1989; Ebersole ve ark., 1993; Tsai ve ark. 1998). Goodson ve ark., (1974) ve Ohm ve ark. (1984), inflame diş eti dokularındaki PGE₂ seviyesinin sağlıklı dokulara göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (Goodson ve ark., 1974; Ohm ve ark., 1984). Prostaglandin E₂ (PGE₂), siklooksigenaz yolunun bir

metabolitidir ve periodontitiste alveolar kemik yıkımının en etkili medyatörlerinden biridir (Offenbacher ve ark., 1993). PGE₂, tek başına veya diğer inflamatuvar ajanlarla ilişkili olarak inflamatuvar yanıtta önemli bir rol oynadığı iddia edilmektedir (Williams, 1983). Prostaglandin E₂ (PGE₂)'nin üretiminden sorumlu ana hücreler mononükleer lökositler / makrofajlardır. Mononükleer lökositler, fibroblastlar ve osteoblastların PGE₂ üretebilmeleri için, IL-1 β , TNF- α gibi sitokinler tarafından stimüle edilmeleri gerektiği düşünülmektedir (Page, 1991). Ayrıca PGE₂'nin, osteoklastlar ve fibroblastların, IL-1 β ve diğer sitokinleri sentezleme özelliklerini indükleyici özelliği mevcuttur (Kardeşler ve ark., 2008).

Çalışmamızda kontrolsüz diyabetli bireyler arasında sağlıklı ve periodontitisli örnekler kıyaslandığında periodontitisli bireylerin diş eti PGE₂ konsantrasyon seviyeleri, periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre yüksek bulundu ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Salvi ve ark.nın (1997) çalışmasında kontrolsüz diyabetik hastalar kendi içlerinde sınıflandırılmış ve kontrolsüz diyabetli ve orta veya şiddetli periodontitisli bireylerde diş eti oluşu sınırlarındaki PGE₂ seviyeleri, hafif periodontitisli veya gingivitisli diyabetik bireylere göre yüksek bulunmuştur (Salvi ve ark., 1997). Salvi ve ark., bu çalışma sonuçlarına göre kontrolsüz Tip I diyabet hastalarında, periodontal hastalığın şiddetinden bağımsız olarak hiperinflamatuvar bir özelliğin ortaya çıktığını iddia etmişlerdir (Salvi ve ark., 1997). Bu veriler doğrultusunda kontrolsüz diyabetli bireylerde, sağlıklı dokularda da hastalıklı dokulara benzer inflamatuvar yanıtlar verilebileceği sonucuna vardık. Çalışmamızın kontrollü diyabetli grupları arasında sağlıklı ve periodontitisli örnekler kıyaslandığında periodontitisli bireylere ait diş eti PGE₂ konsantrasyon seviyeleri, periodontal açıdan sağlıklı bireylere oranla yüksek bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı. Kontrollü diyabeti olan bireylerle ilgili kıyaslanacak bir çalışma bulunamadı.

Çalışmamızda diyabetik ve periodontitisli bireyler kendi aralarında değerlendirildiğinde ise kontrolsüz diyabetli ve periodontitisli bireylere ait diş eti PGE₂ konsantrasyon seviyeleri, kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylerle benzer bulundu. Kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerin diş eti PGE₂ konsantrasyon seviyeleri, kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerle benzer bulundu. Ancak kontrollü ve kontrolsüz diyabet hastalarında kıyaslamalı olarak

PGE₂ konsantrasyon seviyelerinin değerlendirildiği herhangi bir çalışma bulunamadı. Kontrollü diyabetli ve sistemik sağlıklı bireyler kıyaslandığında ise kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere ait diş eti PGE₂ konsantrasyon seviyeleri, sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerle benzer bulundu. Kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylerin diş eti PGE₂ konsantrasyon seviyeleri, sistemik sağlıklı ve periodontitisli bireylerle benzer bulundu. Kardeşler ve ark. (2008), kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylere ait diş eti oluşu sıvısı PGE₂ konsantrasyon seviyelerini, sistemik sağlıklı ve periodontitisli bireylere göre daha düşük bulmuşlardır (Kardeşler ve ark., 2008). Bu veriler doğrultusunda kontrollü diyabetik bireylerde periodontal dokuların, sistemik sağlıklı bireylerle benzer inflamatuvar yanıtlar verdiği düşünülmektedir.

Pek çok sitokin, periodontitiste kemik ve bağ dokusu yıkımına sebep olan veya katkıda bulunan biyoaktivitelere sahiptir. Bu sitokinler arasında, IL-1 β da sayılabilir (Gowen ve ark., 1983). Çalışmamızda sistemik sağlıklı ve periodontitisli bireylerin diş eti biyopsilerinden elde edilen IL-1 β konsantrasyonu, sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek bulundu. Stashenko ve ark. (1991) yaptıkları bir çalışma ile periodontal hastalığın aktif olduğu, ataşman kaybının 2.5 mm.yi aştığı bölgelerden alınan diş eti biyopsileri, IL-1 β içeren hücre sayısı ve IL-1 β konsantrasyonu açısından klinik olarak sağlıklı alanlarla veya periodontal hastalığın inaktif olduğu alanlarla kıyaslandığında her iki parametre de periodontal hastalığın aktif olduğu alanlarda yüksek bulunmuştur (Stashenko ve ark., 1991). Periodontal yıkımın olduğu alanlardan elde edilen diş eti oluşu sıvılarında (Tatakis ve ark., 1993) ve diş eti biyopsilerinde (Gorska ve ark., 2003) IL-1 β nin sağlıklı alanlara göre artmış seviyeleri gösterilmiştir (Tatakis ve ark., 1993; Gorska ve ark., 2003). McGee ve ark. (1998), 6 mm.den büyük ceplerden alınan diş eti biyopsilerinde IL-1 β seviyesini yüksek bulmuşlardır (McGee ve ark., 1998). Sakallıoğlu ve ark. (2007), ratlarda yaptıkları çalışmalarında diyabetik ratlardaki IL-1 β seviyesini negatif kontrol grubuna göre anlamlı bir biçimde yüksek bulmuşlardır (Sakallıoğlu ve ark., 2007).

Çalışmamızda kontrolsüz diyabetli bireyler arasında sağlıklı ve periodontitisli örnekler kıyaslandığında periodontitisli bireylerin diş eti IL-1 β konsantrasyon seviyeleri, periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre anlamlı bir biçimde yüksek bulundu. Cutler ve ark.nın (1999) yaptıkları bir çalışmada kontrol ve deney grupları

bizim çalışmamızda olduğu gibi sınıflandırılarak 6 grup üzerinde çalışılmış diş eti oluşu sıvılarında ve diş etinde IL-1 β seviyelerine bakılmıştır. Cutler ve ark. bu çalışmalarında kontrolsüz diyabetli ve periodontitisli bireylere ait diş eti IL-1 β konsantrasyonunu kontrolsüz diyabetli ve gingivitisli bireylere göre yüksek bulduklarını ancak dişeti oluşu sıvısında bu değerleri benzer bulduklarını bildirmişlerdir (Cutler ve ark., 1999). Çalışmamızın kontrollü diyabetli grupları arasında sağlıklı ve periodontitisli bireyler kıyaslandığında periodontitisli bireylere ait diş eti IL-1 β konsantrasyon seviyeleri, periodontal açıdan sağlıklı bireylere oranla yüksek bulundu. Cutler ve ark. nın çalışmasında da kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylere ait diş eti IL-1 β seviyeleri kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre yüksek yüksek bulduklarını ancak dişeti oluşu sıvısında bu değerleri benzer bulduklarını bildirmişlerdir (Cutler ve ark., 1999). Çalışmamızda kontrolsüz diyabetli ve periodontitisli bireylerin diş eti IL-1 β konsantrasyon seviyeleri kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylere göre anlamlı bir biçimde yüksek bulundu. Ancak Cutler ve ark. (1999), kontrolsüz diyabetli ve periodontitisli bireylerin diş eti ve diş eti oluşu sıvısı IL-1 β konsantrasyon seviyelerini kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylerle benzer bulduklarını bildirmişlerdir (Cutler ve ark., 1999). Çalışmamızda kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere ait diş eti IL-1 β konsantrasyon seviyeleri ile kontrolsüz diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere ait örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Ancak Cutler ve ark.nın çalışmasında ise kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerin diş eti oluşu IL-1 β konsantrasyon seviyeleri, kontrolsüz diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere oranla daha düşük bulmuştur (Cutler ve ark.,1999). Cutler ve ark.nın çalışması ile bizim çalışmamızın sonuçları arasındaki bu farklılıkların nedenlerinden biri kullanılan örnekler olabilir. Cutler ve ark. bu çalışmalarında diş eti oluşu sıvılarındaki IL-1 β konsantrasyon seviyelerini değerlendirirken bizim çalışmamızda diş eti biyopsilerindeki IL-1 β konsantrasyon seviyelerinin değerlendirilmiştir. Ayrıca kontrollü ve kontrolsüz diyabet ayırımında da farklılıklar vardır. Cutler ve ark., HbA1C nin 8.6 değerini sınır kabul etmişlerdir bizim çalışmamızda ise HbA1C nin 7 değeri sınır kabul edilmiştir. Çalışmamızda ayrıca kontrollü diyabetli ve sistemik açıdan sağlıklı bireylere ait veriler de birbirleriyle kıyaslanarak değerlendirildi ve kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere ait diş eti IL-1 β konsantrasyon seviyeleri, sistemik ve periodontal

açından sağlıklı bireylerle benzer bulundu. Bazı çalışmalar da kontrollü Tip II diyabetli bireylerin IL-1 β serum seviyelerini (Mooradian ve ark., 1991; Spranger ve ark. 2003), dişet oluşu ve diş eti seviyelerini (Cutler ve ark., 1999) sistemik sağlıklı bireylerle benzer bulduklarını bildirmişlerdir (Mooradian ve ark., 1991; Cutler ve ark., 1999; Spranger ve ark. 2003). Çalışmamızda kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylere ait diş eti IL-1 β konsantrasyon seviyeleri ise sistemik sağlıklı ve periodontitisli bireylere göre yüksek bulundu. Duarte ve ark. (2007) kontrollü Tip II diyabet hastalarında yaptıkları bir çalışmada IL-1 β çalışmışlardır ve bu çalışma sonuçlarına göre kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylerdeki diş eti biyopsilerinden elde edilen IL-1 β konsantrasyon seviyelerinin, sistemik sağlıklı, periodontitisli ile sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere oranla yüksek olduğu bulunmuştur (Duarte ve ark., 2007). Cutler ve ark. (1999) ise kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylere ait diş eti oluşu sıvısı ve diş eti IL-1 β konsantrasyon seviyelerini sistemik sağlıklı ve periodontitisli bireylerle benzer bulduklarını bildirmişlerdir (Cutler ve ark, 1999). Cole ve ark. (2008) yaptıkları bir çalışmada ise sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı, sistemik sağlıklı, periodontitisli ve Tip II diyabetli (örneklerin 5'i kontrollü diyabet, 2'si kontrolsüz diyabetli bireyden oluşturulmuş), periodontitisli bireylerin diş eti biyopsilerinde IL-1 β gen ekspresyonuna bakılmış ancak gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Cole ve ark., 2008). Bu veriler ve çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar ışığında, diyabetin kontrol altına alınmamasının IL-1 β seviyesini yükselttiği sonucuna varılmıştır. Kontrollü örnekler ile sağlıklı örneklerin ortalamaları ise benzerdir. Periodontitis varlığında ise metabolik kontrolü zayıf diyabetiklerde IL-1 β seviyesinin etkili bir biçimde arttığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda sistemik açıdan sağlıklı ancak periodontal açıdan hastalıklı bireylerin diş eti örneklerindeki TNF- α konsantrasyon seviyeleri, sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre anlamlı bir biçimde yüksek bulundu. Gorska ve ark. (2003) yaptıkları bir çalışma ile sistemik açıdan sağlıklı ancak periodontal açıdan hastalıklı bireylerin diş eti örnekleri ve serumlarındaki TNF- α konsantrasyon seviyeleri, sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre daha yüksek bulunmuştur (Gorska ve ark., 2003). Pek çok çalışma ile aktif periodontal yıkımın olduğu bölgelerden elde edilen diş eti oluşu sıvılarında IL-1 β ve TNF- α 'nın artmış konsantrasyonları gözlenmiştir (Masada ve ark.1990; Stashenko ve ark., 1991) ve

periodontal tedavi sonrasında da bu değerlerin düştüğü ortaya konmuştur (Heasman ve ark., 1993; Gamonal ve ark., 2000). IL-1 β gibi TNF- α 'nın da bağ dokusunun bozulmasını ve alveolar kemik yıkımını indükleyerek doku yıkımının potansiyel bir medyatörü olarak görev gördüğü iddia edilmektedir (Graves ve Cochran, 2003). Periodontal hastalığın ilerleyişi ve TNF- α nın ekspresyonu arasındaki ilişki diş eti oluşu sıvısı ve diş eti doku örneklerinde yapılan pek çok çalışma ile ortaya konmuştur (Rossomando ve ark., 1990; Stashenko ve ark., 1991; Prabhu ve ark., 1996).

Çalışmamızda, kontrolsüz diyabetli grupta periodontitisli diş eti TNF- α seviyelerinin, periodontal açıdan sağlıklı örneklerle kıyasla daha yüksek olduğu bulundu. Aynı zamanda kontrolsüz diyabetli ve periodontitisli gruba ait değerler, diğer gruplar içinde en yüksek değer olduğu gözlemlendi. TNF- α 'nın tip 2 diyabetin patogeneğinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Argiles ve ark., 1994). Morohoshi ve ark. (1996) ise yaptıkları kültür çalışmaları ile yüksek şekerin monositlerdeki TNF- α üretimini stimüle ettiğini bildirmişlerdir (Morohoshi ve ark., 1996). Salvi ve ark. (1997), Tip I diyabet hastalarında benzer sonuçlar elde etmiş ve diş eti oluşu sıvısındaki TNF- α seviyelerinin diyabetli ve periodontitisli bireylerde diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Salvi ve ark., 1997). Kontrollü diyabetik bireyler kendi aralarında değerlendirildiğinde ise periodontitisli örneklerde TNF- α seviyeleri, periodontal açıdan sağlıklı örneklerle istatistiksel olarak benzer bulundu. Bununla beraber diş eti oluşu sıvısı veya diş etinde TNF- α seviyesini, kontrollü diyabet hastalarında değerlendiren herhangi bir çalışma bulunamadı. Kontrolsüz diyabetli ve periodontitisli bireylere ait diş eti TNF- α konsantrasyonu, kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylere göre yüksek bulundu. Diyabetik ve periodontal açıdan sağlıklı bireyler değerlendirildiğinde ise kontrolsüz diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere ait diş eti TNF- α konsantrasyonu, kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerle benzer bulundu. TNF- α konsantrasyonunun kontrollü ve kontrolsüz diyabetik hastaların periodontal durumlarına göre sınıflandırılarak kıyaslamalı olarak çalışıldığı bir çalışma bulunamadı. Cole ve ark. (2008) yaptıkları bir çalışmada, sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı, sistemik sağlıklı ve periodontitisli ve son olarak da diyabetli ve periodontitisli bireylerden oluşan üç grup üzerinde çalışmışlar ve diyabetli gruplarını, 2 adet kontrolsüz ve 5 adet de kontrollü diyabetli bireyden oluşturmuşlardır. Bu çalışma ile gruplar arasında diş eti oluşu

sıvısındaki TNF- α ekspresyonu değerlendirilmiş ve diyabetli ve periodontitisli grup, sistemik sağlıklı ve periodontitisli grup ile sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere ait değerlerin benzer olduğu gözlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Cole ve ark.2008). Çalışmamızda ayrıca kontrollü diyabetli bireylere ait değerler, sistemik sağlıklı bireylerle karşılaştırıldı ve kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerin diş eti TNF- α konsantrasyonları sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerle benzer bulundu. Spranger ve ark. (2003), kontrollü diyabetli bireylerin plazma TNF- α seviyelerini sistemik sağlıklı bireylerden yüksek bulmuşlardır (Spranger ve ark., 2003) Kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylere ait TNF- α konsantrasyon değerleri de sistemik sağlıklı ve periodontitisli bireylerle benzer bulundu. Ancak benzer verilerin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmadı.

İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz'ın (iNOS), uzun süreli periyotlar halinde NO'nin miktarının artışı sağlar. Düşük miktarlardaki NO üretimi, bu molekülün biyolojik aktiviteleriyle ilişkiliyken yüksek miktarlardaki üretimi, hücre ölümü ve doku yıkımıyla ilişkilidir (Lappin ve ark., 2000). İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS), bakteri ve Lipopolisakarit (LPS) gibi bakteri ürünlerine karşı yanıtta hızlı ve güçlü bir biçimde, inflamatuvar hücreler tarafından eksprese edilirler (Wong ve ark., 1995). Lohinai ve ark.'nın 1998'de ratlarda yaptıkları bir çalışmada, ligatürle indüklenmiş periodontitiste iNOS ekspresyonunun arttığı bulunmuştur (Lohinai ve ark., 1998). Ancak iNOS'ın periodontal hastalıkların patogenezindeki rolü tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Çalışmamızda sistemik sağlıklı ve periodontitisli bireylerin diş eti biyopsilerinden elde edilen iNOS konsantrasyonu, sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı bir biçimde yüksek bulundu. Pek çok çalışma ile periodontitisli bireylerde diş etindeki iNOS ekspresyonunun periodontal açıdan sağlıklı bireylere kıyasla arttığı gösterilmiştir (Takeichi ve ark., 1998; Lappin ve ark., 2000; Kendall ve ark., 2000, Hirose ve ark., 2001, Daghigh ve ark., 2002). Batista ve ark. (2002) ise diş etinde bulunan iNOS hücrelerinin miktarının hem periodontitisli hem de gingivitisli bireylerde periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre arttığını ortaya koymuşlardır (Batista ve ark., 2002). Matejka ve ark. da (1998), iNOS substratı L-arginin ve son ürünü L- sitrülünün diş etindeki seviyelerinin periodontitisli bireylerde sağlıklılara oranla arttığını göstermişlerdir (Matejka ve ark., 1998). Shibata ve ark. (2001), lokalize agresif periodontitisli bireylerin nötrofillerinde iNOS aktivitesinin

arttığını iddia etmişlerdir (Shibata ve ark., 2001). Gaspirc ve ark. (2002) lokalize juvenil periodontitis hastalarının inflame diş etlerinde iNOS varlığını göstermişlerdir (Gaspirc ve ark., 2002). Kabashima ve ark. (1998), periapikal granülom dokularında iNOS ekspresyonunun varlığını göstermişler buna karşın çekilmiş dişlerin sağlıklı periodontal ligamentlerinde iNOS ekspresyonunun olmadığını ortaya koymuşlardır (Kabashima ve ark., 1998). Leitao ve ark. (2005), iNOS'ın periodontitiste alveolar kemik yıkımındaki rolünü incelemişlerdir ve iNOS'ın ihibisyonu ile alveolar kemik yıkımında azalma olduğunu bildirmişlerdir (Leitao ve ark., 2005). Güllü ve ark. (2005), kronik periodontitis hastalarında iNOS miktarının arttığını, periodontal tedavi sonrasında ise azaldığını iddia etmişlerdir (Güllü ve ark., 2005).

Çalışmamızda kontrolsüz diyabetli bireyler arasında periodontitisli ve periodontal sağlıklı örnekler kıyaslandığında periodontitisli bireylerin diş eti iNOS konsantrasyon seviyeleri, periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre yüksek bulundu. Çalışmamızın kontrollü diyabetli grupları arasında sağlıklı ve periodontitisli bireyler kıyaslandığında periodontitisli bireylere ait diş eti iNOS konsantrasyon seviyeleri, periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre yüksek bulundu. Çalışmamızda kontrolsüz diyabetli ve periodontitisli bireylerin diş eti iNOS konsantrasyon seviyeleri kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylere göre yüksek bulundu. Çalışmamızda kontrolsüz diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere ait diş eti iNOS konsantrasyon seviyeleri, kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre yüksek bulundu. Çalışmamızda ayrıca kontrollü diyabetli ve sistemik açıdan sağlıklı bireylere ait veriler de birbirleriyle kıyaslanarak değerlendirildi ve kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere ait diş eti iNOS konsantrasyon seviyeleri, sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerle benzer bulundu. Çalışmamızda kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylere ait diş eti iNOS konsantrasyon seviyeleri de sistemik sağlıklı ve periodontitisli bireylerle benzer bulundu. Pan ve ark. (2010), kontrollü Tip II diyabet hastalarında yaptıkları bir çalışma ile diş eti dokusundaki iNOS pozitif boyanan hücre sayısının, kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylerde sistemik sağlıklı ve periodontitisli bireylere göre yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Pan ve ark. ayrıca kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerin diş eti dokusundaki iNOS pozitif boyanan hücre sayısını sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerle benzer bulmuşlardır. (Pan ve ark., 2010). Skaleric ve ark.(2006), Tip

I diyabetli bireylerin hem dişeti dokularında hem de DOS içerisindeki NO miktarı değerlendirdiklerinde glukoz düzeyi kontrol altında olan bireylerin DOS içerisinde ve dokuda NO'ye rastlanmadığı ancak, dişetindeki inflamasyonla birlikte NO miktarının arttığı gözlemlenmiştir (Skaleric ve ark., 2006). Kontrollü diyabet hastalarının sistemik sağlıklı bireylerle kıyaslandığı çalışmalar farklı dokular için de yapılmıştır. Torres ve ark. (2004), kontrollü diyabet hastalarının iskelet kaslarında iNOS miktarının arttığını göstermişlerdir (Torres ve ark., 2004). Tannous ve ark. ise kontrollü Tip I ve Tip II diyabet hastalarının trombositlerinde iNOS'ın ürünü olan peroksi nitritin sistemik sağlıklı bireylere göre arttığı gözlemiştir dolayısıyla iNOS'ın da arttığı düşünülebilir (Tannous ve ark., 1999). Cerchiaro ve ark. ise kontrollü ve kontrolsüz diyabetli ratların nötrofillerindeki iNOS aktivitesini incelemişler ve kontrollü diyabetli ratlara ait değerlerin, sistemik sağlıklılarla benzer olduğunu, kontrolsüz diyabetli ratlarda ise iNOS aktivitesinin arttığını iddia etmişlerdir (Cerchiaro ve ark., 2001). Bu bulgular doğrultusunda kontrollü diyabet hastalarının, sistemik sağlıklı bireylerle benzer iNOS konsantrasyonuna sahip olduğu düşünülebilir. Çalışmamızda kontrolsüz diyabetli ve sistemik sağlıklı bireyler de birbirleriyle kıyaslanarak değerlendirildiğinde kontrolsüz diyabetli ve periodontitisli bireylere ait diş eti iNOS konsantrasyon değerleri sistemik açıdan sağlıklı ve periodontitisli bireylere göre yüksek bulundu. Popkov ve ark. (2005) ise diyabetik ratlarda yaptıkları bir çalışma ile kontrolsüz diyabetli ve periodontitisli ratlardaki iNOS aktivitesini, sistemik açıdan sağlıklı ve periodontitisli ratlarla benzer bulmuşlardır (Popkov ve ark., 2005). Fujimoto ve ark. (2005), kontrolsüz diyabet oluşturulan ratlarda iskelet kası, karaciğer ve adipoz dokuda, Cerchiaro ve ark. (2001) ise nötrofillerinde iNOS ekspresyonunun kontrol grubuna göre arttığını göstermişlerdir (Cerchiaro ve ark., 2001; Fujimoto ve ark., 2005).

Çalışmamızda sistemik sağlıklı ve periodontitisli bireylerin dişeti biyopsilerinden elde edilen IFN- γ konsantrasyon seviyeleri, sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre yüksek bulundu. Pek çok çalışma ile periodontitisli bireylerdeki IFN- γ seviyesinin, periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre yüksek olduğu ortaya konmuştur (Seymour ve ark., 1988; Taubman ve ark., 1992; Duarte ve ark., 2007). Gorska ve ark. ise (2003), periodontitisli bireylerin diş eti ve serumlarındaki IFN- γ konsantrasyonlarını, sağlıklı bireylere göre yüksek bulmuşlardır (Gorska ve ark., 2003). Kabashima ve ark. (1998), periapikal granülom dokularında IFN- γ pozitif

hücrelerin varlığını göstermişler buna karşın kontrol grubu olarak kullandıkları çekilmiş dişlerin sağlıklı periodontal ligamentlerinde IFN- γ pozitif hücreleri gözleyemediklerini bildirmişlerdir (Kabashima ve ark., 1998). Cutler ve ark. (2000) ise kronik periodontitisli hastaları 3 gruba ayırarak, 1. gruba hiçbir tedavi uygulamamış, 2. gruba sadece oral hijyen eğitimi verilmiş, 3. gruba ise oral hijyen eğitiminin yanı sıra oral irrigasyon yapmışlardır ve her üç grupta da tedavi öncesi ve sonrasında ve diş eti oluşu sıvısındaki IFN- γ seviyelerinde anlamlı bir fark bulamamışlardır (Cutler ve ark., 2000).

Çalışmamızda kontrolsüz diyabetli bireyler arasında periodontitisli ve periodontal sağlıklı örnekler kıyaslandığında periodontitisli bireylerin diş eti IFN- γ konsantrasyon seviyeleri, periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre yüksek bulundu. Çalışmamızın kontrollü diyabetli grupları arasında sağlıklı ve periodontitisli bireyler kıyaslandığında periodontitisli bireylere ait diş eti IFN- γ konsantrasyon seviyeleri, periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre yüksek bulundu. Çalışmamızda kontrolsüz diyabetli ve periodontitisli bireylerin diş eti IFN- γ konsantrasyon seviyeleri kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylere göre yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere ait diş eti IFN- γ konsantrasyon seviyeleri, kontrolsüz diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerle benzer bulundu ve iki değer arasında istatistiksel olarak bir anlam bulunamadı. Çalışmamızda ayrıca kontrollü diyabetli ve sistemik açıdan sağlıklı bireylere ait veriler de birbirleriyle kıyaslanarak değerlendirildi ve kontrollü diyabetli ve periodontal açıdan sağlıklı bireylere ait diş eti IFN- γ konsantrasyon seviyeleri, sistemik ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerle benzer bulundu. Ancak benzer verileri değerlendiren kaynağa rastlanmadı. Çalışmamızda kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylere ait diş eti IFN- γ konsantrasyon seviyeleri de sistemik sağlıklı ve periodontitisli bireylerle benzer bulundu. Duarte ve ark. (2007), kontrollü diyabetli ve periodontitisli bireylerdeki diş eti IFN- γ seviyesini sistemik sağlıklı ve periodontitisli bireylerle benzer bulmuşlardır (Duarte ve ark., 2007).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER:

1. Sistemik sağlıklı grupta PGE₂ seviyeleri, periodontitisli örneklerde periodontal sağlıklı örneklere göre yüksek bulundu. Ancak diyabetik bireylerde metabolik kontrol altında olan ve olmayan gruplarda sağlıklı örneklere ait değerler benzer bulundu. Ayrıca kontrollü diyabetli sağlıklı örneklerin PGE₂ değerleri de sistemik sağlıklı ve periodontal sağlıklı örneklerle benzer bulundu. Bu bulgu doğrultusunda da metabolik kontrol altında olan diyabetik bireylerin PGE₂ seviyeleri açısından sistemik sağlıklı bireylerle benzer inflamatuvar yanıtı sahip olabileceği sonucuna varılmıştır.

2. Periodontitisli bireylerdeki diş eti IL-1 β seviyesinin inflamatuvar yanıtta etkili bir medyatör olduğu bir kez daha gösterilmiştir. Metabolik kontrollü bireylerle kontrolsüz bireylerin sağlıklı diş eti örneklerinin IL-1 β seviyeleri arasında istatistiksel fark olmamasına karşın kontrolsüz bireylerde yüksek bulunmuştur. Kontrollü örnekler ile sağlıklı örneklerin ortalamaları ise benzerdir. Dolayısıyla diyabetin kontrol altına alınmaması IL-1 β seviyesini yükseltmektedir. Periodontitis varlığında ise metabolik kontrolü zayıf diyabetiklerde IL-1 β seviyesinin etkili bir biçimde arttığı gözlenmiştir.

3. Kontrollü diyabete sahip bireylerin sağlıklı diş eti örneklerindeki ve sağlıklı bireylerin sağlıklı örneklerindeki TNF- α seviyeleri hemen hemen aynı bulunmuştur. Kontrolsüz diyabetli bireylerin sağlıklı örnekleri, sağlıklı bireyler ve kontrollü bireylerin sağlıklı örnekleri ile istatistiksel olarak benzer olmasına karşın ortalaması her ikisinden de yüksektir. Dolayısıyla diyabetin kontrolsüz olması, sağlıklı dokuda dahi TNF- α salgısını bir derece arttırmaktadır. Kontrolsüz diyabetin periodontitisli örneklerinin TNF- α seviyeleri en yüksektir. Diyabetin kontrolsüz olması, periodontitisin şiddetini etkileyebilir sonucu çıkarılabilir. Kontrollü diyabetik bireyler sistemik sağlıklılarla kıyaslandığında ise hem periodontal açıdan sağlıklı hem de periodontitisli bireylere ait TNF- α değerlerinin benzer olduğu gözlemlendi. Bu bulgu doğrultusunda da metabolik kontrol altında olan diyabetik bireylerin, TNF- α seviyeleri açısından sistemik sağlıklı bireylerle benzer inflamatuvar yanıtı sahip olabileceği sonucuna varılmıştır.

4. Hem sistemik sağlıklı ve hem de diyabetik bireylerde (metabolik kontrol altında olan ve olmayan) periodontitisli örneklerden oluşan gruplara ait iNOS değerleri, sağlıklı bireylerden oluşan gruplara göre daha yüksek bulundu. Hem sistemik hem de periodontal açıdan sağlıklı bireylere ait iNOS değerleri ise tüm gruplar içinde en düşük

bulundu. Bu bulgular doğrultusunda periodontitisli bireylerdeki diş eti iNOS seviyesinin inflamatuvar yanıtta etkili bir medyatör olduğu sonucuna varılmıştır. Metabolik kontrollü ve kontrolsüz diyabetik bireyler kıyaslandığında ise hem periodontitisli hem de periodontal açıdan sağlıklı bireylerde diş eti iNOS seviyesinin metabolik kontrolü zayıf bireylerde arttığı gözlendi ($p < 0,05$). Bu bulgular doğrultusunda da diyabetik bireylerde metabolik kontrolün, diş eti iNOS seviyesi üzerine etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Kontrollü diyabetik bireyler sistemik sağlıklılarla kıyaslandığında ise diş eti iNOS değerlerinin hem periodontitisli hem de periodontal açıdan sağlıklı örneklerde benzer bulundu. Bu bulgu ışığında ise metabolik kontrol altında olan diyabetik bireylerin iNOS seviyeleri açısından sistemik sağlıklı bireylerle benzer inflamatuvar yanıtta sahip olabileceği sonucuna varılmıştır. Burada dikkat çekici bir bulgu olarak iNOS'ı diğer proinflamatuvar medyatörlerden ayrılan özelliği kontrolsüz diyabetlilere ait sağlıklı örneklerde iNOS seviyesinin neredeyse iki katı olmasıdır. Bu bulgu kontrolsüz diyabetli bireylerin sağlıklı dokularının inflamasyona, diğer bireylerin sağlıklı dokularından daha hassas hale geldiği şeklinde yorumlanabilir.

5. IFN- γ miktarı, diğer medyatörlerin aksine diyabetli bireylerde daha düşük çıkmıştır. Diğer medyatörler, kontrolsüz diyabetik bireylerin sağlıklı dokularında yükselme eğiliminde iken IFN- γ azalma eğilimindedir ve kontrollü diyabetiklerin sağlıklı dokularında en düşüktür. Fakat periodontitisli dokularda, kontrolsüz diyabet IFN- γ seviyesini şiddetlendirmektedir. Doku, inflame olduğunda IFN- γ miktarı diyabetle beraber yükselme eğilimindedir.

7. KAYNAKLAR:

- Abu-Soud, H.M., Stuehr, D.J. (1993). Nitric oxide synthases reveal a role for calmodulin in controlling electron transfer. *Proc Natl Acad Sci*, **90**, 10769-10772.
- Açıkgöz, G., Devrim, İ., Özdamar, S. (2004). Comparison of keratinocyte proliferation in diabetic and non-diabetic inflamed gingiva. *J Periodontol*, **75**, 989-994.
- Akintewe, T.A., Kulasekara, B., Adetuyibi, A. (1984). Periodontitis diabetica. A case report from Nigeria. *Trop Geogr Med*, **36**, 85-86.
- Albandar, J.M., Tinoco, E.M. (2002). Global epidemiology of periodontal diseases in children and young persons. *Periodontology 2000*, **29**, 153-176.
- Arai, H., Nomura, Y., Kinoshita, M., Shimizu, H., Ono, K., Goto, H., Takigawa, M., Nishimura, F., Washio, N., Kurihara, H., Murayama, Y. (1995). Response of human gingival fibroblasts to prostaglandins. *Periodont Res*, **30**, 303-311.
- Arai, K., Lee, F., Miyajima, A., Miyakata, S., Arqi, N., Yokota, T. (1990). Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. *Annual Review of Biochemistry*, **59**, 783-836.
- Argiles, J.M., Lopez-Soriano, J., Lopez-Soriano, F.J. (1994). Cytokines and diabetes: the final step? Involvement of TNF- α in both type I and type II diabetes mellitus. *Hormone and Metabolic Research*, **26**, 447-449.
- Assreuy, J., Cunha, F.Q., Liew, F.Y. (1993). Feedback inhibition of nitric oxide synthase activity by nitric oxide. *Br J Pharmacol*, **108**, 833-837.
- Atkinson, M.A., Maclaren, N.K. (1990). What causes diabetes? *Sci Am*, **263**, 62-63, 66-71.
- Aurer, A., Aleksic, J., Ivic-Kardum, M., Aurer, J., Culo, F. (2001). Nitric oxide synthesis decreased in periodontitis. *J Clin Periodontology*, **28**, 565-568.
- Balkwill, F.R., Burke, E. The cytokine network. (1989). *Immunol Today*, **9**, 299-304.
- Barnes, P.J., Liew, F.Y. (1995). Nitric oxide and asthmatic inflammation. *Immunol Today*, **16**, 128-130.
- Batista, A.C., Silva, T.A., Chun, J.H., Lara, V.S. (2002). Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. *Oral Diseases*, **8**, 254-260.
- Bauer, H., Jung, T., Tsikas, D. (1997). Nitric oxide inhibits the secretion of T-helper 1 and T-helper 2 associated cytokines in activated human T cells. *Immunology*, **90**, 205-211.

- Bedard, S., Marcotte, B., Marette, A. (1997). Cytokines modulate glucose transportin skeletal muscle by inducing the expression of inducible nitric oxide synthase. *Biochem J*, **325**, 487-493.
- Belardelli, F., Ferrantini, M. (2002). Cytokines as a link between innate and adaptive antitumor immunity. *Trends in Immunology*, **23**, 201-208.
- Bertolini, D.R., Nedwin, G.E., Bringman, J.S., Smith, D.D., Mundy, G.R. (1986). Stimulation of bone resorption and inhibition of formation in vitro by human tumor necrosis factors. *Nature*, **319**, 516-518.
- Bevilacqua, M.I., Pober, J.S., Wheeler, M.E., Cotran, R.S., Gimbrone, M.A.Jr. (1985). Interleukin 1 acts on cultured human vascular endothelium to increase the adhesion of polymorphonuclear leukocytes, monocytes, and related leukocyte cell lines. *J Clin Invest*, **76**, 2003-2011.
- Birkedal-Hansen, H. (1993). Roles of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodont Res*, **28**, 500-510.
- Bissada, N.F., Manouchehr-Pour, M., Haddow, M., Spagnuolo, P.J. (1982). Neutrophil functional activity in juvenil and adult onset diabetic patients with mild and severe periodontitis. *J Periodontol Res*, **17**, 500-502.
- Brandi, M.L., Hukkanen, M., Umeda, T. (1995). Bidirectional regulation of osteoclast function by nitric oxide synthase isoforms. *Proc Natl Acad Sci USA* **92**, 2954-2958.
- Brasher, W.J., Rees, T.D. (1970). Systemic conditions in the management of periodontal patients. *Journal of Periodontology*, **41**, 349-352.
- Bredt, D.S., Schmidt, H.H.H.W. (1996). The citrulline assay. In: Feelisch, M., Stamler, S. *Methods in nitric oxide research. Canada: John Wiley and Sons Ltd.* 250-255.
- Brennan, P.A., Thomas, G.J., Langdon, J.D. (2003). The role of nitric oxide in oral diseases. *Archives of Oral Biology*, **48**, 93-100.
- Bruch-Gerharz, D., Ruzicka, T., Kolb-Bachofen, V. (1998). Nitric oxide in human skin: current status and future prospects. *J Invest Dermatol*, **110**, 1-7.
- Burgner, D., Rockett, K., Kwiatkowski, D. (1999). Nitric oxide and infectious diseases. *Arch Dis Child*, **81**, 185-188.
- Cerchiaro, G.A., Scavone, C., Texeira, S., Sannomiya, P. (2001). Inducible nitric oxide synthase in rat neutrophils: role of insulin. *Biochemical Pharmacology*, **62**, 357-362.
- Chen, S., Wu, J., Song, Z., Zhang, J. (2000). An investigation of immunocompetence substance in normal gingival and periodontitis tissue. *Chinese Medical Journal*, **113**, 844-847.

- Cho, H.J., Xie, Q.W., Calaycay, J. (1992). Calmodulin is a subunit of nitric oxide synthase from macrophages. *J Exp Med*, **176**, 599-604.
- Christgau, M., Palitzsch, K.D., Schmalz, G., Kreiner, U., Frenzel, S. (1998). Healing response to non-surgical periodontal therapy in diabetes mellitus: Clinical, microbiological and immunologic results. *J Clin Periodontol*, **25**, 112-124.
- Clancy, R.M., Amin, A.R., Abramson, S.B. (1998). *Arthritis Rheum*, **41**, 1141-1151.
- Clemens, M.J. (1991). In: *Read Ap: Brown, T. ed. Cytokines. Oxford: Bios Scientific Publishers.*
- Colasanti, M., Persichini, T., Menegazzi, M. (1995). Induction of nitric oxide synthase mRNA expression: suppression by exogenous nitric oxide. *J Biol Chem*, **270**, 26731-26733.
- Cole, C.M., Sundararaj, K.P., Leite, R.S., Nareika, A., Slate, E.H., Sanders, J.J., Lopes-Virella, M.F., Huang, Y. (2008). 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*, **43**, 717-722.
- Corbett, J.A., Kwon, G., Misko, T.P. (1994). Tyrosine kinase involvement in IL-1 β induced expression of iNOS by beta-cells purified from islets of Langerhans. *Am J Physiol*, **267**, C48-C54.
- Corbett, J.A., Sweatland, M.A., Lancaster, J.R. (1993b). A one hour pulse with IL-1 β induces formation of nitric oxide by rat islets of Langerhans: evidence for tyrosine kinase signalling mechanism. *FASEB J*, **7**, 369-374.
- Cutler, C.W., Machen, R.L., Jotwani, R., Iacopino, A.M. (1999). Heightened gingival inflammation and attachment loss in type 2 diabetics with hyperlipidemia. *J Periodontol*, **70**, 1313-1321.
- Cutler, C.W., Stanford, T.W., Abraham, C., Cederberg, R.A., Boardman, T.J., Ross, C. (2000). Clinical benefits of oral irrigation for periodontitis are related to reduction of pro-inflammatory cytokine levels and plaque. *J Clin Periodontol*, **27**, 134-143.
- Daghigh, F., Borghaei, R.C., Thornton, R.D., Bee, J.H. (2002). Human gingival fibroblasts produce nitric oxide in response to proinflammatory cytokines. *J Periodontol*, **73**, 392-400.
- Damoulis, P.D., Hauschka, P.V. (1997). Nitric oxide acts in conjunction with proinflammatory cytokines to promote cell death in osteoblasts. *J Bone Miner Res*, **12**, 412-422.

- Dayer, J.M., Beutler, B., Cerami, A. (1985). Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts. *J Exp Med*, **162**, 2163-2168.
- Dinarello, C.A. (1996). Biologic basis of interleukin-1 in disease. *Blood*, **87**, 2095-2147.
- Dinarello, C.A. (1987). The biology of interleukin 1 and comparison to tumor necrosis factor. *Immunol Lett*, **16**, 227-232.
- Doxey, D.L., Cutler, C.W., Iacopino, A.M. (1998). Diabetes prevents periodontitis-induced increases in gingival platelet derived growth factor-B and interleukin 1-beta in a rat model. *J Periodontol*, **69**, 113-119.
- Duarte, P.M., Neto, J.B.C., Casati, M.Z., Sallum, E.A., Nociti, F.H.Jr. (2007). Diabetes modulates gene expression in the gingival tissues of patients with chronic periodontitis. *Oral Diseases*, **13**, 594-599.
- Ebersole, J.L., Singer, R.E., Steffensen, B., Filloon, T., Kornman, K.S. (1993). Inflammatory mediators and immunoglobulins in GCF from healthy, gingivitis and periodontitis sites. *J Periodontal Res*, **28**, 543-546.
- Emrich, L.J., Shlossman, M., Genco, R.J. (1991). Periodontal disease in non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Periodontol*, **62**, 123-131.
- Engbretson, S., Chertog, R., Nichols, A., Hey-Hadavi, J., Celenti, R., Grbic, J. (2007). Plasma levels of tumor necrosis factor- α in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Clin Periodontol*, **34**, 18-24.
- Firatli, E. (1997). The relationship between clinical periodontal status and insulin dependent diabetes mellitus: results after five years. *J Periodontol*, **68**, 138-140.
- Finestone, A.J., Boorujy, S.R. (1967). Diabetes mellitus and periodontal disease. *Diabetes*, **59**, 816-822.
- Finkelman, F.D., Katona, I.M., Mosmann, T.R., Coffman, R.L. (1988). IFN-1 regulates the isotypes of Ig secreted during *in vivo* humoral immune responses. *J Immunol*, **140**, 1022-1027.
- Forrester, K., Ambs, S., Lupold, S.E., Kapust, R.B., Spillare, E.A., Weinberg, W.C. (1996). Nitric oxide-induced p53 accumulation and regulation of inducible nitric oxide synthase expression by wild-type p53. *Proc Natl Acad Sci*, **93**, 2442-2447.
- Fox, S.W., Chow, J.W. (1998). Nitric oxide synthase expression in bone cells. *Bone*, **23**, 1-6.
- Förstermann, U., Closs, E.I., Pollock, J.S. (1994). Nitric oxide synthase isozymes-characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension*, **23**, 1121-1131.

- Frisbee, J.C., Maier, K.G., Stepp, D.W. (2002). Oxidant stress-induced increase in myogenic activation of skeletal muscle resistance arteries in obese Zucker rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **283**, 160-168.
- Fujimoto, M., Shimizu, N., Kunii, K., Jeevendra Martyn, J.A., Ueki, K., Kaneki, M. (2005). A role for iNOS in fasting hyperglycemia and impaired insulin signaling in the liver of obese diabetic mice. *Diabetes*, **54**, 1340-1348.
- Fukada, S.Y., Silva, T.A., Saconato, I.F., Garlet, G.P., Avila-Campos, M.J., Silva, J.S., Cunha, F.Q. (2008). iNOS-derived Nitric Oxide modulates infection-stimulated bone loss. *J Dent Res*, **87**, 1155-1159.
- Gamonal, J., Acevedo, A., Bascones, A., Jorge, O., Silva, A. (2000). Levels of interleukin-1 beta, -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *J Periodontol*, **71**, 1535-1545.
- Gansauge, S., Gansauge, F., Nussler, A.K. (1997). Exogenous, but not endogenous nitric oxide increases proliferation rates in senescent human fibroblasts. *FEBS Lett* **410**, 160-164.
- Garret, I.R., Boyce, B.F., Oreffo, R.O. (1990). Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo. *J Clin Invest* **85**, 632-639.
- Gaspirc, B., Masera, A., Skaleric, U. (2002). Immunolocalization of Inducible Nitric Oxide Synthase in Localized Juvenile Periodontitis Patient. *Connective Tissue Research*, **43**, 413-418.
- Gemmel, E., Marshall, R.I., Seymour, G.J. (1997). Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontology* **2000**, **14**, 112-143.
- Ghezzi, P., Dinarello, C.A. (1988). IL-1 induces IL-1. 3. Specific inhibition of IL-1 production by IFN- γ . *J Immunol*, **140**, 4236-4244.
- Goldhaber, F. (1971). Tissue culture studies of bone as a model system for periodontal research. *J Dent Res*, **50**, 278-285.
- Goodson, J.M., Dewhirst, F.E., Brunetti, A. (1974). Prostaglandin E2 levels and human periodontal disease. *Prostaglandins*, **6**, 81-85.
- Gorska, R., Gregorek, H., Kowalski, J., Laskus-Perendyke, A., Syczewska, M., Madalinski, K. (2003). Relationship between clinical parameters and cytokines profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, **30**, 1046-1052.

- Graves, D.T., Cochran, D.(2003). The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Periodontol*, **74**, 391-401.
- Grossi, G.S., Genco, R.J.(1998). Periodontal disease an diabetes mellitus: a two-way relationship. *Ann Periodontol*, **3**, 97-101.
- Groves, R.W., Kapahi, P., Barker, J.N., Haskard, D.O., MacDonald, D.M. (1995). Detection of circulating adhesion molecules in erythrodermic skin disease. *J Am Acad Dermatol.*, **32**, 32-6.
- Gowen, M., Wood, D.D., Ihrle, E.J., McGuire, M.K., Russell, R.G. (1983). An interleukin 1 like factor stimulates bone resorption in vitro. *Nature*, **306**, 378-380.
- Güllü, C., Özmeriç, N., Tokman, B., Elgün, S., Balos, K. (2005). Effectiveness of scaling and root planning versus modified Widman flap on nitric oxide synthase and arginase activity in patients with chronic periodontitis. *J Periodont Res*, **40**, 168-175.
- Gyrko, R., G. Boustany, P. L., Huang, A., Kantarcı, T. E., Van Dyke, C. A. Genco, F.C. Gibson III. (2003). Mice lacking inducible nitric oxide synthase demonstrate impaired killing of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect. Immun*, **71**, 4917-4924.
- Heasman, P.A., Collins, J.G., Offenbacher, S. (1993). Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 beta, leukotriene B4, prostaglandin E2, thromboxane B2 and tumour necrosis factor alpha in experimental gingivitis in humans. *J Periodontal Res.*, **28**, 241-247.
- Hirose, M., K. Ishiara, A., Saito, T., Nakagawa, S., Yamada, K., Okuda. (2001). Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. *J. Periodontol*, **72**, 590-597.
- <http://www.medscape.com>.
- Hughes, F.J., Buttery, L.D.K., Hukkanen M.V (1999). Cytokine-induced prostaglandin E₂ synthesis and cyclooxygenase-2 activity are regulated both by a nitric oxide-dependent and independent mechanism in rat osteoblasts in vitro. *J Biol Chem*, **274**, 1776-1782.
- Iacopino, A.M. (2001). Periodontitis and diabetes interrelationships: role of inflammation. *Annals of Periodontology*, **6**,125-137.
- Ignarro, L.J., Buga, G.M., Wood, K.S. (1987). Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA*, **84**, 9265-9269.
- Iwamoto, Y., Nishimura, F., Nakagawa, M., Sugimoto, H., Shikata, K., Makino, H., Fukuda, T., Tsuji, T., Iwamoto, M., Murayama, Y.(2001). The effect of

- antimicrobial periodontal treatment on circulating tumor necrosis factor-alpha and glycated hemoglobin level in patients with type 2 diabetes. *J Periodontol*, **72**, 774-778.
- Kabashima, H., Nagata, K., Maeda, K., Iijima, T.(1998). Interferron- γ -producing cells and inducible nitric oxide synthase-producing cells in periapical granulomas. *J Oral Pathol Med*, **27**, 95-100.
- Kaplan, R., Mulvihill, J., Ramamurthy, N. Golub, L. (1982). Gingival collagen metabolism in human diabetics. *J Dent Res*, **61**, 275.
- Kapur, S., Bedard, S., Marcotte, B., Cote, C.H, Maretta, A. (1997). Expression of nitric oxide synthase in skeletal muscle; a novel for nitric oxide as a modulatorof insulin action. *Diabetes*, **46**,1691-1700.
- Kardeşler, L., Buduneli, N., Bıyıkoğlu, B., Çetinkalp, Ş., Kütükçüler, N. (2008). Gingival crevicular fluid PGE₂, IL-1 β , t-PA, PAI-2 levels in type 2 diabetes and relationship eith peridontal disease. *Clinical Biochemistry*, **41**, 863-868.
- Karjalainen, K., Tervonen, T., Kuoksa, T. (1996). Collagen glycosylation in palatal mucosa in type I diabetic patients and in healthy controls. *J Dent Res*, **75**, 215.
- Katz, P.P., Wirthlin, M.R.Jr., Szpunar, S.M., Selby, J.V., Sepe, S.J., Showstack, J.A. (1991). Epidemiology and prevention of periodontal disease in individuals with diabetes. *Diabetes Care*, **14**, 375-385.
- Kawashima, N., Nakano-Kawanishi, H., Suzuki, N., Takagi, M., Suda, H. (2005). Effect of NOS inhibitor on cytokine and COX2 expression in rat pulpitis. *J Dent Res*, **84**, 762-767.
- Kendall, H.K., Haase, H.R., H.,Li, Y., Xiano, P.M. Bartold. (2000). Nitric oxide synthase type II is synthesized by human gingival tissue and cultured human gingival fibroblasts. *J. Periodontal. Res*, **35**, 194-200.
- Kendall, H.K., Marshal, R.I, Bartold P.M. (2001). Nitric oxide and tissue destruction. *Oral Diseases*, **7**, 2-10.
- Kjersem, H., Hilsted, J., Madsbad, S., Wandall, J.H., Johansen, K.S., Borregaard, N. (1988). Polymorphonuclear leucocyte dysfunction during short-term metabolic changes from normo- to hyperglycemia in type I (insulin dependent) diabetic patients. *Infection*, **16**, 215-221.
- Klatt, P., Schmidt, K., Uray, G., Mayer, B. (1993). Multiple catalytic functions of brain nitric oxide synthase. Biochemical characterization, cofactor-requirement, and the role of N omega-hydroxy-L-arginine as an intermediate. *J Biol Chem*. **268**, 14781-7.

- Klein, D.C., Raisz, L.G. (1970). Prostaglandins: stimulation of bone resorption in tissue culture. *Endocrinology*, **86**, 1436-1440.
- Knowles, R.G., Moncada, S. (1994). Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J*, **298**, 249-258.
- Kröncke, K.D., Fehsel, K., Kolb-Bachofen, V. (1997). Nitric oxide cytotoxicity versus cytoprotection-how, why, when and where? *Nitric Oxide*, **1**, 107-120.
- Kurrek, M.M., Zapol, W.M., Holzmann, A., Filippov, G., Winkler, M., Bloch, K.D. (1995). In vivo lipopolysaccharide pretreatment inhibits cGMP release from the isolated-perfused rat lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **269**, L618-L624.
- Lancaster, J.R. (1997). A tutorial on diffusibility and reactivity of free nitric oxide. *Nitric oxide*, **1**, 18-30.
- Lappin, D.F., Kjeldsen, M., Sander, L., Kinane, D.F. (2000). Inducible nitric oxide synthase expression in periodontitis. *J Periodontol Res*, **35**, 369-373.
- Laurent, M., Lepoivre, M., Tenu, J-P. (1996). Kinetic modelling of the nitric oxide gradient generated in vitro by adherent cells expressing inducible nitric oxide synthase. *Biochem J*, **314**, 109-113.
- Le, J., Vilcek, J. (1987). Biology of disease. Tumor necrosis factor and interleukin 1. Cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest*, **3**, 234.
- Leitao, R.F.C, Ribeiro, R.A, Chaves, H.V., Rocha, F.A.C, Lima, V, Brito, G.A.C. (2005). Nitric Oxide Synthase Inhibition Prevents Alveolar Bone Resorption in Experimental Periodontitis in Rats. *J Periodontol*, **76**, 956-963.
- Liew, F.Y., Li, Y., Severn, A. (1991). A possible novel pathway of regulation by murine T helper type-2 (Th2) cells of a Th1 activity via the modulation of the induction of nitric oxide synthase on macrophages. *Eur J Immunol* **21**, 2489-2494.
- Liljenberg, B., Lindhe, J., Berglundh, T., Dahlen, G., Jonsson, R. (1994). Some microbiological, histopathological and immunohistochemical characteristics of progressive periodontal disease. *J Clin Periodontol*, **21**, 720-727.
- Listgarten, M., Ricker, F. Jr., Laster, L., Shapiro, J., Cohen, D.W. (1974). Vascular basement lamina thickness in the normal and inflamed gingiva of diabetics and non-diabetics. *J Periodontol*, **45**, 676-684.
- Lohinai, Z.M., Szabo, C. (1998). Role of nitric oxide in physiology and pathophysiology of periodontal tissues. *Med Sci Monit*, **4**, 1089-1095.
- Lohinai, Z. P., Benedek, E., Feher, A., Gyorf, L., Rosivall, A., Fazekas, A.L., Salzman, C., Szabo. (1998). Protective effects of mercaptoethylguanidine, a selective inhibitor

- of inducible nitric oxide synthase, in ligature-induced periodontitis in the rat. *Br. J. Pharma*, **123**, 353-360.
- Lorsbach, R.B., Russell S.W. (1992). A specific sequence of stimulation is required to induce synthesis of the anti-microbial molecule nitric oxide by mouse macrophages. *Infect Immun*, **60**, 2133-2135.
- Lowestein, C.J., Snyder, S.H. (1992). Nitric oxide, a novel biologic messenger. *Cell*, **70**, 705-707.
- Löe, H. (1967). The gingival index, the plaque index and the retention index systems. *J. Periodontol*, **38**, 610-616.
- Löe, H. (1993). Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, **16**, 329-334.
- Majetka, M., Partyka, L., Ulm, C., Solar, P., Sinzinger, H. (1999). Nitric oxide synthesis is increased in periodontal disease. *J Periodontol Res*, **33**, 517-518.
- Mandrup-Poulsen, T., Zumsteg, U., Reimers, J., Pociot, F., Mørch, L., Helqvist, S., Dinarello, C.A., Nerup J. (1993). Involvement of interleukin 1 and interleukin 1 antagonist in pancreatic beta-cell destruction in insulin-dependent diabetes mellitus. *Cytokine*, **5**, 185-191.
- Manouchehr-Pour, M., Spagnuolo, P.J., Romdan, H.M., Bissada, N.F. (1981). Comparison of neutrophil chemotactic response in diabetic patients with mild and severe periodontal disease. *J Periodontol*, **52**, 410-415.
- Masada, M. P., Persson, R., Kenney, J. S. (1990). Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: Implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res*. **25**, 156-163.
- McGee, J.M., Tucci, M.A., Edmundson, T.P., Serio, C.L., Johnson, R.B. (1998). The relationship between concentrations of proinflammatory cytokines within gingiva and the adjacent sulcular depth. *J Periodontol*, **69**, 865-871.
- McMullen, J.A., Van Dyke, T.E., Horoszewicz, H.U., Genco, R.J. (1981). Neutrophil chemotaxis in individuals with advanced periodontal disease and a genetic predisposition to diabetes mellitus. *J Periodontol*, **52**, 167-173.
- Mealey, B.L. (2006). Periodontal disease and diabetes: a two-way street. *J Am Dent Assoc*, **137**, 26-31.
- Mendieta, C., Reva, C.M. (1993). Periodontal manifestations of systemic disease and management of patients with systemic disease. *Curr Opin Periodontol*, **1**, 18-27.

- Miles, A.M, Bohle, D.S., Glassbrenner, P.A. (1996). Modulation of superoxide dependent oxidation and hydroxylation reactions by nitric oxide. *J Biol Chem*, **271**, 40-47.
- Molvig, J., Baek, L., Christensen, P. (1988). Endotoxin-stimulated human monocyte secretion of interleukin 1, tumor necrosis factor alpha and prostaglandin E₂ shows stable interindividual differences. *Scand J Immunol*, **27**, 706-716.
- Molvig, J. (1992). A model of the pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *Dan Med Bull*, **39**, 509-541.
- Moncada, S., Palmer, R.M, Higgs, E. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*, **43**, 109-142.
- Mooradian, A.D., Reed, R.L., Meridith, K.E, Scuderi, P. (1991). Serum levels of tumor necrosis factor and IL-1 alpha and IL-1 beta in diabetic patients. *Diabetes Care*. **14**, 63-65.
- Morohoshi, M., Fujisawa, K., Uchimura, I., Numano, F. (1996). Glucose-dependent interleukin 6 and tumor necrosis factor production by human peripheral blood monocytes in vitro. *Diabetes*, **45**, 954-959.
- Mosmann, T.R., Sad, S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. (1996). *Immunol Today*, **17**, 138-146.
- Nagareddy, P.R, Xia, Z., McNeil, J.H., MacLeod, K.M. (2005). Increased expression of iNOS is associated with endothelial dysfunction and impaired pressor responsiveness in streptozotocin-induced diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **289**, 2144- 2152.
- Nathan, C., Xie, Q.W. (1994). Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem* **269**, 13725-13728.
- Navarro-Sanchez, A.B., Faria Almedia, R., Bascones-Matrtinez, A. (2007). Effect of non-surgical periodontal therapy on clinical and immunological response and glycaemic control in type 2 diabetic patients with moderate periodontitis. *J Clin Periodontol*, **34**, 835-843.
- Niemann, A., Björklund, A., Eizirik, D.L. (1994). Studies on the molecular regulation of the inducible form of nitric oxide synthase (iNOS) in insulin-producing cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **106**, 151-155.
- Nishimura, F., Iwamoto, Y., Mineshiba, J., Shimizu, A., Soga, Y., Murayama, Y. (2003). Periodontal disease and diabetes mellitus: the role of tumor necrosis factor- α in a 2-way relationship. *J Periodontol*, **74**, 97-102.

- Offenbacher, S., Odle, B.M., Van Dyke, T.E. (1986). The use of crevicular fluid prostaglandin E₂ levels as a predictor of periodontal attachment loss. *J Periodont Res*, **21**, 101-112.
- Offenbacher, S., Heasman, P.A., Collins, J.G. (1993). Modulation of host PGE₂ secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J Periodontol*, **64**, 432-444.
- O'Garra A. (1989). Peptide regulatory factors. Interleukins and the immune system. *Part 1. Lancet*, **1**, 943-946.
- Page, R. (1991). The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Perio Res*, **26**, 230-242.
- Pan, Z., Güzeldemir, E., Toygar, H.U., Bal, N., Bulut, S. (2009). Nitric oxide synthase in gingival tissues of patients with chronic periodontitis and with and without diabetes. *J Periodontol*. **81**, 109-120.
- Paulsen, S.M., Wurster, S.H., Nanney, L.B. (1998). Expression of inducible nitric oxide synthase in human burn wounds. *Wound Repair Regen* **6**, 142-148.
- Peacock, M.E., Carson, R.E. (1995). Frequency of self-reported medical conditions in periodontal patients. *Journal of Periodontol*, **66**, 1004-1007.
- Perreault., M, Marette, A. (2001). Targeted disruption of inducible nitric oxide synthase protects against obesity-linked insulin resistance in muscle. *Nat Med*. **7**, 1138-43.
- Pociot, F., Molvig, J., Wogensen, L., Worsaae, H., Nerup, J. (1991). A Taq 1 polymorphism in the human interleukin-1 β (IL-1 β) gene correlates with IL-1 β secretion in vitro. *Eur J Clin Invest*, **22**, 396-402.
- Popkov, V.L., Fil'chukova, I.A., Lapina, N.V. (2005). Galenko-Yaroshevskii V.P., Dukhanin A.S. Activity of nitric oxide synthase and concentration of nitric oxide end metabolites in the gingiva unde experimental pathological conditions. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **140**, 391-393.
- Prabhu, A., Michalowicz, B.S., Mathur, A. (1996). Detection of local and systemic cytokines in adult periodontitis, **67**, 515-522.
- Rafalowska, J. (1998). HIV-1 infection in the CNS. A pathogenesis of some neurological syndromes in the light of recent investigations. *Folia Neuropathol* **36**, 211-216 .
- Ralston, S.H., Todd, D., Helfrich, M. (1994). Human osteoblast-like cells produce nitric oxide and Express inducible nitric oxide synthase. *Endocrinology*, **135**, 330-336.

- Rayfield, E.F., Ault, M.J., Keusch, G.T., Brothers, M.J., Bechemias, C., Smith, H. (1982). Infection and diabetes: the case for glucose control. *Am J Med*, **72**, 438-450.
- Rees, T.D. (1994). The diabetic dental patients. *Dent Clin North Am*, **38**, 447-463.
- Regan, J.E., Mitchell, D.F. (1963). Roentgenographic and dissection measurements of alveolar crest height. *J Am Dent Assoc*, **66**, 356-359.
- Ribiere, C, Jaubert, A.M., Gaudiot, N., Sabourault, D., Marcus, M.L., Boucher, J.L., Denis-Henriot, D., Giudicelli, Y. (1996). White adipose tissue nitric oxide synthase: a potential source for NO production. *Biochem Biophys Res Commun*, **222**, 706-712.
- Richards, D., Rutherford, R.B. (1988). The effects of interleukin-1 on collagenolytic activity and prostaglandin-E secretion by human periodontal-ligament and gingival fibroblast. *Arch Oral Biol*, **33**, 237-243.
- Rosa, F., Fellows, M. (1984). Effect of gamma-interferon on MHC antigens. *Immunol Today*, **9**, 261-262.
- Rose, L.F., Genco, R.J., Cohen, D.W., Mealey, B.L.(2000). Periodontal Medicine.
- Rossomando, E.F., Kennedy, J.E., Hadjimichael, J. (1990). Tumour necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans. *Arch Oral Biol*, **35**, 431-443.
- Ryan, M.E., Carnu, O., Kamer, A. (2003). The influence of diabetes on the periodontal tissues. *JADA*, **134**, 34-40.
- Safkan-Seppälä, B., Ainamo, J. (1992). Periodontal conditions of in insulin-dependent diabetics. *J Clin Periodontol*, **19**, 24-29.
- Saito, S., Ngan, P., Saito, M., Lanese, R., Shanfeld, J., Davidovitch, Z. (1990). Interactive effects between cytokines on PGE production by human periodontal ligament fibroblasts in vitro. *J Dent Res*, **69**, 1456-1462.
- Sakallıoğlu, E.E., Keleş, G., Sakallıoğlu, U., Keskiner, İ., Lütfioğlu, M., Açıkgöz, G. (2007). Diabetin periodontal inflamasyon ve doku yıkımına etkisi. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **31**, 74-81.
- Salvi, G.E., James, D.B., Offenbacher, S. (1998). PGE₂, IL-1 β , TNF- α responses in diabetics as modifiers of periodontal disease expression. *Ann Periodontol*, **3**, 40-50.
- Salvi, G.E., Collins, J.G., Yalda, B., Arnold, R.R., Lang, N.P., Offenbacher, S. (1997). Monocytic TNF α secretion patterns in IDDM patients with periodontal diseases. *J Clin Periodontology*, **24**, 8-16.

- Salvi, G.E., Yalda, B., Collins, J.G., Jones, B.H., Smith F.W., Roland, R.A., Offenbacher, S. (1997). Inflammatory mediator response as a potential risk marker for periodontal diseases in insulin-dependent diabetes mellitus patients. *J Periodontol*, **68**, 127-135.
- Sammalkorpi, K. (1989). Glucose intolerance in acute infections. *J Intern Med*, **225**: 15-19.
- Santamaria, P., Gehrz, R.C., Bryan, M.K. Barbosa, J.J. (1989). Involvement of class II MHC molecules in the LPS-induction of IL-1/TNF secretions by human monocytes. *J Immunol*, **143**, 913-922.
- Schmidt, A.M., Weidman, E., Lalla, E. (1996). Advanced glycation endproducts (AGE) induce oxidant stress in the gingiva: A potential mechanism underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. *J Periodontol Res*, **31**, 508-515.
- Schwartz, Z., Goultschin, J., Dean, D.D., Boyan, B.D. (1997). Mechanisms of alveolar bone destruction in periodontitis. *Periodontology 2000*, **14**, 158-172.
- Seppälä, B., Ainamo, J. A. (1994). site-by-site follow-up study on the effect of controlled versus poorly controlled insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*, **21**, 161-165.
- Seppälä, B., Seppälä, M., Ainamo, J. (1993). A longitudinal study on insulin-dependent diabetes mellitus and periodontal disease. *J Clin Periodontol*, **20**, 161-165.
- Sessa, W.C. (1994). The nitric oxide synthase family of proteins. *J Vasc Res*, **31**, 131-143.
- Seymour, G.J., Gemmell, E., Walsh, L.J., Powell, R.N. (1988). Immunohistological analysis of experimental gingivitis in humans. *Clin Exp Immunol*, **71**, 132-7.
- Shibata, K., Warbington, M.L., Gordon, B.J., Kurihara, H., Van Dyke T.E. (2001). Nitric Oxide Synthase activity in neutrophils from patients with localized aggressive periodontitis. *J Periodontol*, **72**, 1052-1058.
- Shimabukuro, M., Zhou, Y.T., Levi, M., Unger, R.H. (1998). Fatty acid-induced beta cell apoptosis: a link between obesity and diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **95**, 2498-2502.
- Shlossman, M., Knowler, W.C., Pettitt, D.J., Genco, R.J. (1990). Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. *J Am Dent Assoc*, **121**, 532-536.
- Skaleric, U., Gaspirc, B., McCartney-Francis, N., Masera, A., Wahl, S. M. (2006). Proinflammatory and antimicrobial nitric oxide in gingival fluid of diabetic patients with periodontal disease. *Infection and immunity*, **74**, 7010-7013.

- Skyler, J.S. (1990). Relation of metabolic control of diabetes mellitus to chronic complications. In: Rifkin H., Porte, D.Jr. eds. *Ellenberg and Rifkin's diabetes mellitus, New York: Elsevier, 4th ed.*, 856-879.
- Socransky, S.S., Haffajee, A.D. (1992). The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol*, **63**, 322-331.
- Sorsa, T., Ingman, T., Suomalainen, K., Halinen, S., Saari, H., Konttinen, Y.T., Uitto, V.J., Golub, L.M. (1992). Cellular source and tetracycline inhibition of gingival crevicular fluid collagenase of patients with labile diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*, **19**, 146-149.
- Spranger, J., Kroke, A., Mohlig, M., Hoffmann, K., Bergmann, M.M., Ristow, M., Boening, H., Pfeiffer, A.F. (2003). Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Postdam Study. *Diabetes*, **52**, 812-817.
- Stadler, J., Harbrecht, B.G., Di Silvio, M. (1993). Endogenous nitric oxide inhibits the synthesis of cyclooxygenase products and interleukin-6 by rat Kupffer cells. *J Leukoc Biol* **53**, 165-172.
- Stashenko, P., Dewhirst, F.E., Peros, W., Kent, R.L., Ago, J.M. (1987). Synergistic interactions between interleukin 1, tumor necrosis factor, and lymphotoxin in bone resorption. *J Immunol*, **138**, 1464-1468.
- Stashenko, P., Fujiyoshi, P., Obernesser, M. S. (1991). Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J. Clin Periodontol*; **18**, 548-554.
- Stashenko, P., Jandinski, J.J., Fujiyoshi, P. (1991). Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol*; **62**, 504-509.
- Stewart, J.E., Wager, K.A., Friedlander, A.H., Zadeh, H.H. (2001). The effect of periodontal treatment on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*, **28**, 306-310.
- Sugita, H., Kaneki, M., Tokunaga, E., Sugita, M., Koike, C., Yasuhara, S., Tompkins, R.G., Martyn, J.A.J. (2002). Inducible nitric oxide synthase plays a role in LPS-induced hyperglycemia and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **282**, 386-394.
- Suzuki, T., Kumamoto, H., Ooya, K., Motegi, K. (2002). Expression of inducible nitric oxide synthase and heat shock proteins in periapical inflammatory lesions. *J Oral Pathol Med*, **31**, 488-493.
- Szopa, T.M., Titchener, P.A., Portwood, N.D., Taylor, K.W. (1993). Diabetes mellitus due to viruses - some recent developments. *Diabetologia*, **38**, 687-695.

- Takeichi, O., Hayahi, M., Tsurumachi, T., Tomita, T., Ogihara, H., Ogiso, B., Saito, T. (1999). Radicular cysts. *International Endodontic Journal*, **32**, 124-130.
- Takeichi, O., Saito, I., Okamoto, Y. (1998). Cytokine regulation in the synthesis of nitric oxide in vivo by chronically infected human polymorphonuclear leucocytes. *Immunology*, **93**, 275-280.
- Tannous, M., Rabini, R.A., Vignini, A., Moretti, N., Fumelli, P., Zielinski, B., Mazzanti, L., Mutus, B. (1999). Evidence for iNOS-dependent peroxynitrite production in diabetic platelets. *Diabetologia*, **42**, 539-544.
- Tatakis, D.N. (1993). Interleukin-1 and bone metabolism: a review. *Periodontol*, **64**, 416-431.
- Tatakis, D.N., Schneeberger, G., Dziak, R. (1988). Recombinant interleukin-1 stimulates prostaglandin E2 production by osteoblastic cells: synergy with parathyroid hormone. *Calcif Tissue Int*, **42**, 358-362.
- Taubman, M.A., Haffajee, A.D., Socransky, S.S., Smith, D.J., Ebersole, J.L. (1992). Longitudinal monitoring of humoral antibody in subjects with destructive periodontal diseases. *J Periodontal Res.*, **27**, 511-21.
- Taylor, G.W., Burt, B.A., Becker, M.P., Genco, R.J., Shlossman, M, Knowler, W.C., Pettitt, D.J. (1998). Non-insulin dependent diabetes mellitus and alveolar bone loss progression over 2 years. *J Periodontol*, **69**, 76-83.
- Taylor-Robinson, A.W., Liew, F.Y., Severn, A. (1994). Regulation of the immun response by nitric oxide differentially produced by T helper type 1 and T helper type 2 cells. *Eur J Immunol* **24**: 980-984.
- Tervonen, T., Knuutila, M. (1986). Relation of diabetes control to periodontal pocketing and Inducible nitric oxide synthase activity by interferon- γ -producing cells in human alveolar bone level. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; **61**: 346-349.
- Tervonen, T., Oliver, R.D. (1993). Longterm control of diabetes mellitus and periodontitis. *J Clin Periodontol*, **20**, 432-435.
- Teuscher, A., Egger, M., Herman, J.B. (1989). Diabetes and hypertension: Blood pressure in clinical diabetic patients and a control population. *Arch Intern Med*, **149**, 1942-1945.
- Torres, S.H., De Sanctis, J.B., de L Briceno, M., Hernandez, N., Finol, H.J. (2004). Inflammation and nitric oxide production in skeletal muscle of type 2 diabetic patients. *Journal of Endocrinology*, **181**, 419-427.
- Tsai, C., Hayes, C., Taylor, G.W. (2002). Glycemic control of type 2 diabetes and severe periodontal disease in the US adult population. *Community Dent Oral Epidemiol*, **30**, 182-192.

- Tsai, C.C., Hong, Y.C., Chen, C.C, Wu, Y.M. (1998). Measurement of prostaglandin E₂ and leukotriene B₄ in the gingival crevicular fluid. *Journal of Dentistry*, **26**, 97-103.
- Uğar-Çankal, D., Özmeriç, N. (2006). A multifaced molecule, nitric oxide in oral and periodontal diseases. *Clinica Chimica Acta*, **366**, 90-100.
- Van der Broek, M., Bachman, M.F., Kohler, G., Barner, M., Escher, R., Zinkernagel, R., Kopf, M. (2000). IL-4 and IL-10 antagonize IL-12 mediated protection against acute vaccinia virus infection with limited role of IFN- γ and nitric oxide synthetase 2. *Journal of Immunology*, **164**, 371-378.
- Van Der Velden, U. (1979). Probing force and the relationship of the probe tip to the periodontal tissues. *J. Clin. Perodontol*, **6**, 106-114.
- Van Dyke, T.E., Lester, M.A., Shapira, L. (1993). The role of the host response in periodontal disease progression: implication for future treatment strategies. *J Periodontol*, **64**, 792-806.
- Vlassara, H. (1991). Non-enzymatic glycosylation. *Diabetes Annual*, **6**: 371-389.
- Wang, R., Ghahary, A., Shen, Y.J. (1996). Human dermal fibroblasts produce nitric oxide and express both constitutive and inducible nitric oxide synthase isoforms. *J Invest Dermatol*, **106**, 419-427.
- Wei, X., Charles, I.G., Smith, A. (1995). Altered immun responses in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Nature* **375**, 408-411.
- Weinberg, J.B., Misukonis, M.A., Shami, P.J. (1995). Human mononuclear phagocyte inducible nitric oxide synthase (iNOS): analysis of iNOS mRNA, iNOS protein, biopterin, and nitric oxide production by blood monocytes and peritoneal macrophages. *Blood*, **86**, 1184-1195.
- Wheat, J.L. (1980). Infections in diabetes mellitus. *Diabetes Care*, **3**, 187-197.
- Williams, T.J., Peck, M.J. (1977). Role of prostaglandin-mediated vasodilation in inflammation. *Nature* **270**, 530-532.
- Wink, D.A., Osawa, Y., Darbyshire, J.F., Jones, C.R., Eshenaur, S.C., Nims, R.W. (1993). Inhibition of cytochromes P450 by nitric oxide and a nitric oxide-releasing agent. *Arch Biochem Biophys*, **300**, 115-123.
- Wolf, J. (1977). Dental and periodontal conditions in diabetes mellitus. A clinical and radiographic study. *Pro Finn Dent Soc*, **4-6**, 1-56.

- Wong, J.M., Biliar, T.R. (1995). Regulation and function of inducible nitric oxide synthase during sepsis and acute inflammation. *Adv. Pharmacol.* **34**, 155-170.
- Xie, Q., Nathan, C. (1994). The high-output nitric oxide pathway: role and regulation. *J Leukoc Biol.* **56**, 576-82.
- Yoon, J.W. Role of viruses in the pathogenesis of IDDM. (1991). *Ann Med*, **23**. 437-445.
- Yuan, M., Konstantopoulos, N., Lee, J., Hansen, L, Li, Z.W., Karin, M., Shoelson, S.E. (2001). Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikkbeta. *Science*, **293**, 1673-7.
- Zamora, R.Y., Vodovotz, Biliar, T.R. (2000). Inducible nitric oxide synthase and inflammatory diseases. *Mol. Med.* **6**, 347-373.
- Zykova, S.N., Jenssen, T.G., Berdal, M., Olsen, R., Myklebust, R., Seljelid, R. (2000). Altered cytokine and nitric oxide secretion in vitro by macrophages from diabetic type II-like db/db mice. *Diabetes*, **49**, 1451-1458.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Erzurum'da doğdum. İlkokula Tokat Namık Kemal İlkokulunda başladım daha sonra Bursa 1.Murat İlkokulu'nda devam ettim, ortaokulu Bursa Cumhuriyet Lisesi'nde ve liseyi Bursa Çelebi Mehmet Süper Lisesi'nde okudum.1998 yılında Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde yüksek öğrenimime başladım. 2004 yılı Temmuz ayında yüksek öğrenimimi tamamlayarak 2005 Şubat ayında Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım. Aynı anabilim dalında 2005 Eylül ayında atandığım Araştırma Görevlisi kadrosu ile 2009 Eylül ayında kurumlar arası geçiş atamalarına başvurduğum ve Sağlık Bakanlığı Uşak Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi'ne atandım. Halen Sağlık Bakanlığı Uşak Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi'nde diş hekimi olarak görev yapmaktayım.