

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

PERİODONTAL AÇIDAN SAĞLIKLİ VE  
PERİODONTAL HASTALIĞA SAĞIP BİREYLERDE  
DİŞETİ OLUĞU SIVISINDAKİ BPI VE İNTERLÖKİN-1  
BETA DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Kazım KORKMAZ

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Kemal ÜSTÜN

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
PERİODONTOLOĞİ ANABİLİM DALI**

**PERİODONTAL AÇIDAN SAĞLIKLİ VE  
PERİODONTAL HASTALIĞA SAĞİP BİREYLERDE  
DİŞETİ OLUĞU SIVISINDAKİ BPI VE İNTERLÖKİN-1  
BETA DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dt. Kazım KORKMAZ**

**DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Kemal ÜSTÜN**

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDH-2019-4850 proje numarası ile desteklenmiştir.

**2020-ANTALYA**

## ONAY SAYFASI

Kazım KORKMAZ tarafından sunulan bu çalışma jürimiz tarafından **oy birliği/oy çokluğu** ile Periodontoloji Anabilim Dalında Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.  
21/01/2021

### İmza

- Üye : Prof. Dr. Taner ARABACI  
(Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)
- Üye : Doç. Dr. Kemal ÜSTÜN  
(Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)
- Üye : Doç. Dr. Mükerrerem HATİPOĞLU  
(Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)
- Üye : Doç. Dr. Mehmet ÖZGÖZ  
(Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)
- Üye : Dr. Öğr. Üy. Özlem DALTABAN  
(Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)

Bu tez, 15/12/2020 tarih ve 47/145 sayılı Yönetim Kurulu kararıyla belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

**Diş Hekimliği Fakültesi**

**Kurum Yöneticisi**

D an

## ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

**Dt. Kazım KORKMAZ**

İmza

Tez Danışmanı

**Doç. Dr. Kemal ÜSTÜN**

## TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini paylaşmaktan çekinmeyen, her türlü durumda bana karşı olan desteğini esirgemeyen, tez süreci boyunca bilgileriyle bana yol gösteren, üzerimde çok emeği olan danışman hocam, anabilim dalı başkanım Sayın Doç.Dr. Kemal ÜSTÜN'e

Uzmanlık eğitimi boyunca her konuda desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve tecrübesiyle bana her daim yol gösteren Sayın Doç. Dr. Mükerrerem HATİPOĞLU'na,

Bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan çekinmeyen, güleryüzüyle her zaman destek olan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Özlem DALTABAN'a,

Paylaştığı bilgi ve tecrübeyle üzerimde çok emeği olan, desteğini her zaman hissettiğim Sayın Dr. Öğr. Üyesi Nezahat Arzu KAYAR'a,

Samimiyetini, iyi niyetini ve desteğini asla esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Mehmet ÖZGÖZ'e,

Her konuda bana yol gösteren, bildiğini her zaman paylaşmaktan çekinmeyen, kıdemlim, arkadaşım Sayın Uzm. Dt. Dilara SEZEN KORANA'ya

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum arkadaşlarım Arş. Gör. Dt. Mustafa BURAK DEMİRCİ, Arş. Gör. Dt. Murat ÇALIŞIR, Arş. Gör. Dt. M. Serhat YILMAZ, Arş. Gör. Dt. Mehmet Can KILINÇASLAN, Arş. Gör. Dt. Hilal KORKMAZ, Arş. Gör. Dt. Fatma KÖKSEL BABUN ve Dr. Dt. Zeliha AYTEKİN'e

Samimi tavırlarıyla bana aile ortamı hissettiren klinik hemşirelerimiz Ulviye KAPLAN ve Derya SÜLÇE'ye, klinik personellerimiz Ahmet ÖZMEN ve Halil TURGUT'a

İyisiyle kötüsüyle her zaman yanımda olan, sevgilerini daima hissettiğim ve bugünlere gelme sürecimde büyük emek veren aileme,

Teşekkürlerimi sunarım

## ÖZET

**Amaç:** Çalışmamızın amacı periodontal açıdan sağlıklı ve periodontal hastalığa sahip bireylerden elde edilen dişeti oluğu sıvısı örneklerindeki BPI (Bakterisidal permeability protein) ve interlökin-1beta (IL-1 $\beta$ ) miktarlarının belirlenmesi, bu miktarların çalışma grupları arasında karşılaştırılması, klinik parametreler ile olan ilişkilerinin değerlendirilmesidir.

**Yöntem:** Çalışmaya sistemik olarak sağlıklı ve sigara içmeyen bireyler dahil edilmiştir. Çalışma gruplarında periodontal açıdan sağlıklı 50 birey (sağlıklı grubu) ve periodontal hastalığa sahip 50 birey (periodontitis grubu) olmak üzere toplam 100 birey yer almaktadır. Bireylerin plak indeks (PI), gingival indeks (GI), sondlamada cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), sondlamada kanama (SK) klinik parametreleri ölçülmüştür. Dişeti oluğu sıvısı örnekleri kağıt şerit yöntemiyle alınmıştır ve analizleri için ELİSA yöntemi kullanılmıştır.

**Bulgular:** IL-1 $\beta$  seviyeleri ile klinik parametrelerin tamamı (PI, GI, SCD, KAS, SK) arasında pozitif istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ( $p<.001$ ) Benzer şekilde BPI seviyeleri ile klinik parametreler arasında da pozitif yönde anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ( $p<0,01$ ). DOS hacmi ile klinik parametreler PI ( $r=0,722$ ), GI ( $r=0,740$ ), SCD ( $r=0,742$ ), KAS ( $r=0,751$ ) ve SK ( $r=0,752$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon bulunmaktadır ( $p<0,01$ ). Gruplar arası yapılan karşılaştırmada hem IL-1 $\beta$  hemde BPI seviyelerinin periodontitis grubunda sağlıklı gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmektedir ( $p<0,001$ ).

**Sonuç:** Klinik parametrelerin arttığı durumlarda IL-1 $\beta$  miktarları da anlamlı derecede yükselmektedir. Periodontal hastalığa sahip bireylerdeki IL-1 $\beta$  miktarı sağlıklı bireylerle kıyaslandığında anlamlı derecede yüksektir. BPI ve klinik parametreler arasında pozitif yönlü ilişki görülmektedir. Periodontal hastalığa sahip bireylerdeki BPI miktarı, sağlıklı bireylerdekine oranla anlamlı derecede yüksektir. BPI'nin periodontitisteki önemi ve teropötik etkisinin daha iyi anlaşılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Periodontitis, DOS, BPI, IL-1 $\beta$

## **ABSTRACT**

**Objective:** The aim of our study is to determine the amounts of BPI (Bactericidal permeability protein) and interleukin-1beta (IL-1 $\beta$ ) in gingival fluid samples obtained from individuals with periodontally healthy and periodontal disease, to compare these amounts between study groups, and to evaluate their relationship with clinical parameters.

**Method:** Systemically healthy and non-smoking individuals were included in the study. The study groups included a total of 100 individuals, 50 of whom were periodontally healthy (healthy group) and 50 with periodontal disease (periodontitis group). The clinical parameters of plaque index (PI), gingival index (GI), pocket depth (PD), clinical attachment level (CAL), and bleeding on probing (BOP) were measured. The gingival fluid samples were taken in the direction of the paper strip and ELISA method was used for their analysis.

**Results:** A positive statistically significant relationship was found between IL-1 $\beta$  levels and all clinical parameters (PI, GI, PD, CAL, BOP) ( $p < 0,01$ ). Likewise, there is a positive significant relationship between BPI levels and clinical parameters ( $p < 0,01$ ). There is a statistically significant positive correlation between GCF volume and clinical parameters PI ( $r: 0,722$ ), GI ( $r: 0,740$ ), PD ( $r: 0,742$ ), CAL ( $r: 0,751$ ) and BOP ( $r: 0,752$ ) ( $p < 0,01$ ). In the comparison between the groups, it is seen that both IL-1 $\beta$  and BPI levels were statistically significantly higher in the periodontitis group compared to the healthy group ( $p < 0,001$ ).

**Conclusion:** In cases where clinical parameters increase, IL-1 $\beta$  amounts also increase significantly. The amount of IL-1 $\beta$  in individuals with periodontal disease is significantly higher compared to healthy individuals. There is positive correlation between BPI and clinical parameters. The amount of BPI in individuals with periodontal disease is significantly higher than in healthy individuals. More studies are needed to better understand the importance and therapeutic effect of BPI in periodontitis.

**Keywords:** Periodontitis, GCF, BPI, IL-1 $\beta$

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b>	i
<b>ABSTRACT</b>	ii
<b>İÇİNDEKİLER</b>	iii
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	vii
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	viii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	4
<b>2.1. Periodontal Hastalıklar</b>	4
<b>2.2. Dişeti Oluğu Sıvısı</b>	5
<b>2.3. Periodontal Mikrobiyoloji</b>	6
<b>2.4. Periodontal Patogenez</b>	8
<b>2.4.1 BPI</b>	12
<b>2.4.2 Başlangıç Lezyonu</b>	14
<b>2.4.3 Erken Lezyon</b>	15
<b>2.4.4. Yerleşik Lezyon</b>	16
<b>2.4.5. İlerlemiş Lezyon</b>	17
<b>2.4.6. B hücreleri</b>	17
<b>2.4.7. Matriks Metalloproteinazlar</b>	18
<b>2.4.8. Sitokinler</b>	19
<b>2.4.9. IL-1 Ailesi ve IL-1<math>\beta</math></b>	21
<b>2.4.10 Kemik Yıkımı</b>	22
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	24
<b>3.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri</b>	24
<b>3.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri</b>	24
<b>3.3. Klinik Değerlendirmeler</b>	25
<b>3.3.1 Plak İndex</b>	25
<b>3.3.2 Gingival İndex</b>	26
<b>3.3.3 Sondlama Cep Derinliği</b>	26
<b>3.3.4. Klinik Ataşman Seviyesi</b>	27
<b>3.3.5 Sondlamada Kanama</b>	27

3.4. Biyokimyasal Analizler	27
3.4.1. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Toplanması ve Miktarlarının Ölçülmesi	27
3.4.2. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Hazırlanması	29
3.4.3. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Biyokimyasal Analizi	29
3.4.3.1. IL-1 $\beta$ Miktarının Belirlenmesi	29
3.4.3.2. BPI Miktarının Belirlenmesi	33
3.5. İstatiksel Analizler	33
<b>4. BULGULAR</b>	35
4.1. Demografik Bulgular	35
4.2. Gruplar Arası Klinik Parametrelerin Karşılaştırılması	36
4.3. Gruplar Arası DOS Miktarlarının Karşılaştırılması	37
4.4. Gruplar Arası DOS IL-1 $\beta$ , BPI Seviyelerinin Karşılaştırılması	38
4.5. DOS Hacmi ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler	40
4.6. IL-1 $\beta$ , BPI Seviyeleri ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler	42
4.7. IL-1 $\beta$ , BPI Seviyeleri ve DOS Hacmi Arasındaki İlişkiler	45
<b>5. TARTIŞMA</b>	47
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	60
<b>KAYNAKLAR</b>	61
<b>EKLER</b>	81
EK-1 Etik Kurul Onay Belgesi	81
EK-2 Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	83
EK-3 Hasta Anamnez ve Periodontal İndeks Formu	86
EK-4 Periotron skorlarının mikrolitre değerleri	87
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	88

## SİMGELER ve KISALTMALAR

Aa	Aggregatibacter Actinomycetemcomitans
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
BPI	Bactericidal Permeability Increasing Protein
DOS	Dişeti Oluğu Sıvısı
EFP	Avrupa Periodontoloji Federasyonu
ELİSA	Enzym Linked-Immuno-Sorbent Assay
F.n.	Fusobacterium Nucleatum
GI	Gingival İndeks
GNB	Gram-Negatif Bakteri
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
IFN	İnterferon
Ig	İmmünglobulin
IGF	Insulin-Like Growth Factor
IL	İnterlökin
IL-1Ra	Interleukin-1 Receptor Antagonist
KAS	Klinik Ataşman Seviyesi
KAK	Klinik Ataşman Kaybı
kD	Kilodalton
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
LFA-1	Lymphocyte Function-Associated Antigen 1
LPS	Lipopolisakkarit
LXA4	Lipoxin A4
µl	Mikrolitre
Mac-1	Macrophage-1 Antigen
mm	Milimetre
MMP	Matriks Metalloproteinaz
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NET	Nutrophil Extracellular Trap
NHANES	Ulusal Sağlık Ve Beslenme İnceleme Araştırması
NK	Doğal Öldürücü Hücre
OPG	Osteoprotegerin

PAMP	Patojen İle İlişkili Moleküler Paternler
PBS	Phosphate Buffered Saline
P.g.	Porphyromonas Gingivalis
pg	Pikogram
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E <sub>2</sub>
PGN	Peptidoglikan
PI	Plak İndeksi
PMNL	Polimorfonükleer Lökositler
PRR	Pattern Recognition Receptors
RANKL	Nükleer Faktör Kappa-B Ligand
SCD	Sondlanabilir Cep Derinliği
SK	Sondlamada Kanama
sn	Saniye
TGF	Transforming Growth Factor
Th	Yardımcı T Hücresi
TIMP	MMP Doku İnhibitörleri
TLR	Toll-Like Reseptör
TMB	Tetrametilbenzidin
TNF	Tumor Necrosis Factor
T. denticola	Treponema Denticola
T. forsythia	Tannerella Forsythia
° C	Santigrat Derece

## ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 2.1 Periodontal Hastalıkların Patogenezinde Rol Oynayan Risk Faktörleri
- Şekil 2.2. Aktif Nötrofiller
- Şekil 2.3 BPI'in Yapısı ve İşlevi.
- Şekil 2.4 Mukozal Yüzeylerdeki BPI ve İlişkili Proteinlerin Potansiyel Rollerini
- Şekil 3.1 Williams Tipi Periodontal Sond
- Şekil 3.2. Standart Kağıt Stripler
- Şekil 3.3 Periotron 8010 Cihazı
- Şekil 3.4 Hamilton #701 Şırıngası
- Şekil 3.5. Biotek ELx-5 Microplate Yıkayıcı
- Şekil 3.6. Standartların Seyreltilmesi
- Şekil 3.7. Örneklerin Çalkalayıcı Cihazda İnkübe Edilmeleri
- Şekil 3.8. Durdurucu Solüsyon İlave Edilmesi ve Rengin Sarıya Dönüşmesi
- Şekil 3.9. Biotek ELx-800 Microplate Okuyucu.
- Şekil 4.1. Yaş Ortalamalarının Gruplara Göre Dağılımı
- Şekil 4.2. DOS Hacminin Gruplara Göre Dağılımı
- Şekil 4.3. IL-1 $\beta$  Miktarlarının Gruplara Göre Dağılımı
- Şekil 4.4. BPI Miktarlarının Gruplara Göre Dağılımı
- Şekil 4.5. DOS Hacmi ile Klinik Parametreler Arasındaki İlişki
- Şekil 4.6. DOS IL-1 $\beta$  Miktarları ile Klinik Parametreler Arasındaki İlişki
- Şekil 4.7. DOS BPI Miktarları ile Klinik Parametreler Arasındaki İlişki
- Şekil 4.8. DOS Hacmi ile IL-1 $\beta$  Miktarları Arasındaki İlişki
- Şekil 4.9. DOS Hacmi ile BPI Miktarları Arasındaki İlişki

## TABLULAR DİZİNİ

- Tablo 2.1. Nötrofil, Monosit, Makrofajlar İçin Kemotaktik Maddeler
- Tablo 2.2. Aktif Nötrofillerin İmmünofloresan Boyama Modeli
- Tablo 2.3. CD4-Pozitif T-Hücrelerinin Gelişim Yolları, İşlevleri ve Periodontitis ile İlişkileri
- Tablo 3.1. Mikrokuyucuklardaki Boşlukların, Standartların ve Örneklerin Düzenlenmesi.
- Tablo 4.1. Gruplara Ait Demografik Veriler
- Tablo 4.2. Klinik Parametrelerin Gruplar Arasındaki Karşılaştırılması
- Tablo 4.3. Dos Hacminin Gruplar Arasındaki Karşılaştırılması
- Tablo 4.4. DOS IL-1 $\beta$  ve BPI Miktarlarının Gruplar Arasındaki Karşılaştırılması
- Tablo 4.5. DOS Hacmi ve Klinik Parametreler Arası İlişki
- Tablo 4.6. DOS IL-1 $\beta$  ve BPI Miktarları ile Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler
- Tablo 4.7. DOS IL-1 $\beta$  ve BPI Miktarları ile DOS Hacmi Arasındaki İlişkiler

## 1. GİRİŞ

"Periodontal hastalıklar" terimi, dişleri destekleyen dişeti, kemik ve periyodonsiyum gibi çok çeşitli dokuları etkileyebilen kronik iltihaplı durumları kapsar<sup>(1)</sup>. Periodontal hastalık, diş ve dişetinde oluşan mikrobiyal dental plaktaki bakteriler tarafından başlatılan, dişetin lokalize iltihabı gingivitis ile başlar tedavi edilmediğinde, bağ dokusu, kemik yıkımı ve periodontal cep oluşumu ile karakterize periodontitise doğru ilerler<sup>(1)</sup>. Periodontitiste, periodontal patojenler ile konakçı inflamatuvar-immün sistem arasındaki etkileşim, bağ dokusunun yıkımından, periodontal ataşman kaybından ve alveolar kemik kaybından sorumludur<sup>(2)</sup>. Bugüne kadar oral kavitede 700'den fazla farklı bakteri türü tespit edilmiştir<sup>(3)</sup>. Mikrobiyal biyofilm kapsamlı bir şekilde incelendiğinde, tek bir bireyde yaklaşık 150 farklı türün bulunabildiği gösterilmiştir<sup>(4)</sup>. Periodontal hastalık, vücudun genel enflamatuvar yüküne katkıda bulunarak diabetes mellitus ve ateroskleroz gibi sistemik hastalıkları kötüleştirir<sup>(5)</sup>.

Periodontitis, mevcut hastalığın şiddeti, ve ağız içi yayılımı baz alınarak 4 evreden oluşur. Birinci evre periodontitis, 1-2 mm ataşman seviyesi kaybı, dişin koronalinde yüzde 15'ten daha fazla kemik kaybı ile karakterizedir ve bu evrede periodontal hastalığa bağlı diş kaybı görülmez. İkinci evre, 3-4 mm ataşman kaybı ile yüzde 15-33'lük kemik kaybının bulunduğu evredir ayrıca diş kaybı yoktur. Üçüncü evre periodontitiste 5 mm'den fazla ataşman kaybı ve kökün yarısına ulaşmış kemik kaybı mevcuttur ve periodontitise bağlı diş kaybı gözlenir (maksimum 4 diş). Dördüncü evre periodontitis ise 5 veya daha fazla dişin kaybının bulunduğu evredir<sup>(6)</sup>.

Dişeti oluşu sıvısı (DOS), periodontal dokulardan salgılanan ve ağızdan veya dişeti oluşu içinde biriken bir serum transüdatı veya enflamatuvar eksüdadır<sup>(7)</sup>. DOS, subgingival ve supragingival plaktaki mikroorganizmalar ve ürünlerinin yanı sıra kan elementlerini ve periyodonsiyumun hücre ve dokularından gelen maddeleri içerir<sup>(8)</sup>.

Sitokinler, bağışıklık ve enflamasyonun başlangıcı ve sonraki aşamalarında yer alan düşük moleküler ağırlıklı glikoproteinlerdir, immün yanıtın genişliğini ve süresini düzenlerler. Genellikle geçici olarak üretilirler, son derece güçlüdürler, pikomolar

konsantrasyonlarda etki ederler ve nispeten düşük sayıdaki spesifik hücre yüzeyi reseptörleri ile etkileşirler<sup>(9)</sup>.

Sitokinlerin gingivitis ile ilgili iltihabi cevapta, periodontal hastalıklarda doku yıkımında, adaptif immün cevabın düzenlenmesinde önemli rolleri vardır<sup>(10)</sup>. Sitokinler otokrin ve parakrin bir doğaya sahiptir ve kendi kendilerinin salımını kontrol ederler<sup>(10)</sup>. İnterlökin-1Beta (IL-1 $\beta$ ); hücre metabolizması, immün ve inflamatuvar reaksiyonlar üzerinde lokal ve sistemik etkilere sahiptir<sup>(11)</sup>. IL-1 $\beta$  en fazla monosit/makrofaj, nötrofiller tarafından üretilir. Bunun yanında epitel hücreleri, keratinositler, fibroblastlar, B lenfositler ve osteositler tarafından da üretilmektedir. IL-1 $\beta$  güçlü inflamatuvar moleküller olan prostoglandinler, lökotrienler, platelet aktive edici faktör ve sitokinlerin üretimi gibi, birçok doğal immün yanıt işlemini yönetir. Bunların yanında hücre proliferasyonu, kemik yıkımı, doku yıkımı gibi olaylarda oldukça önemli fonksiyonları vardır<sup>(12)</sup>. Periodontal ceplerden elde edilen dişeti oluğu sıvısında biyolojik olarak önemli oranlarda IL-1 $\beta$  ve İnterlökin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) seviyelerine rastlanmıştır<sup>(13)</sup>. Periodontal ceplerden elde edilen DOS örneklerinde IL-1 $\beta$  seviyeleri, İnterlökin-1 $\alpha$  seviyelerinden 40 kat fazla bulunmuştur. Yapılan çalışmalar, İnterlökin-1beta'nın, periodontal hastalıkların başlamasında ve ilerlemesinde önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir<sup>(14)</sup>. Ayrıca periodontitiste görülen bağ dokusu ve alveolar kemik yıkımı mekanizmasında IL-1 $\beta$ 'nin önemli bir rol üstlendiği gösterilmiştir<sup>(15)</sup>.

Bakterisidal geçirgenlik arttırıcı protein (BPI), insanlarda, özellikle nötrofillerden salgılanan bir proteindir. BPI, gram negatif bakterilere karşı güçlü antimikrobiyal aktivite sergiler<sup>(16)</sup>. Gram negatif bakterilere yanıt olarak nötrofillerle salgılanan BPI, hücre içi ve hücre dışı bakteriyel öldürmeyi, endotoksin nötralizasyonunu, temizlenmesini ve gram negatif bakteri dış zar antijenlerinin dendritik hücrelere verilmesini sağlar<sup>(16)</sup>. Mukozal epitelyal hücreler, mikroorganizma ve mikroorganizma ürünleriyle birlikte var olmaya adapte olmuştur<sup>(16)</sup>. Oral, gastrointestinal ve dışı genital traktusun epitelyal hücrelerinin BPI eksprese ettiği gösterilmiştir<sup>(16)</sup>.

Periodontal hastalığın gelişmesinde en önemli role sahip bakteriler gram negatif bakterilerdir (Porphyromonas Gingivalis, Tannerella Forsythia, Fusobakterium Nucleatum, Provetella intermedia).

Patojen plağa karşı oluşan ilk konak yanıtı nötrofiller aracılığı ile olur. BPI'ın gram negatif bakterilere karşı seçiciliği önemlidir. Bu seçicilik BPI'ın gram negatif bakterilerde bulunan lipid A bölgesine yüksek afinite göstermesiyle ilişkilidir. BPI'ın gram negatif bakterilere karşı sitotoksik etkisi ve endotoksin nötrolizasyonu bu yolla gerçekleşmektedir. Bu özellikler BPI'ın periodontopatojenlerle ilişkisini araştırmaya değer kılar.



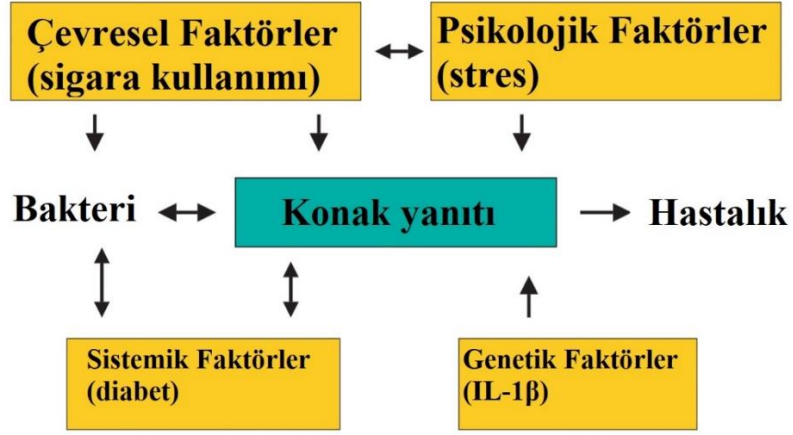
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Periodontal Hastalıklar

Sağlık, sadece hastalık veya sakatlığın olmaması değil, tam bir fiziksel, zihinsel ve sosyal refah durumudur.<sup>(17)</sup> Bu genel sağlık prensiplerine dayanarak periodontal sağlık, klinik olarak, dişeti iltihabı, periodontitis veya diğer periodontal durumlarla ilişkili hastalıkların yokluğuna dayanır aynı zamanda başarılı bir şekilde tedavi edilmiş gingivitis veya periodontitis öyküsü olan hastaları içerebilir.<sup>(18)</sup>

Periodontitis, disbiyotik plak biyofilmleriyle ilişkili ve diş destek dokuların aşamalı kaybı ile karakterize kronik multifaktöriyel inflamatuvar hastalıktır. Başlıca özellikleri klinik ataşman kaybı (KAK) ile ortaya çıkan periodontal doku desteği kaybını, radyografik olarak değerlendirmede alveoler kemik kaybını, periodontal cep oluşumunu ve dişeti kanamasını içerir.<sup>(19)</sup> 1990-2010 yılları arasındaki ilgili yayınların dahil edildiği sistematik bir araştırmada periodontitisin toplumun en yaygın altıncı hastalığı olduğu gösterilmiştir.<sup>(20)</sup> Periodontitis, yüksek prevalansı nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur, ayrıca dişin mobilitesine ve kaybına yol açabilir, çiğneme fonksiyonunu ve estetiği olumsuz yönde etkileyebilir, sosyal problemler yaratabilir ve yaşam kalitesini bozabilir.<sup>(19, 21, 22)</sup> Periodontitis, diş kaybı sebeplerinin büyük bir bölümünü oluşturur, yüksek diş bakım maliyetlerine neden olur ve genel sağlık üzerinde bir olumsuz etkiye sahiptir.<sup>(19)</sup>

Bakteriler periodontal hastalıkların etiolojisinde önemli rol oynamaktadır ancak hastalığın ilerleyişi ve gelişimini açıklamada tek başına bakteri varlığı yeterli olmamakta, konağa ait ve çevresel faktörlerin de bu sürece dahil olduğu günümüzde kabul edilmektedir.<sup>(23)</sup>



Şekil 2.1. Periodontal hastalıkların patogeneğinde rol oynayan risk faktörleri

Kültür ve mikroskopi teknikleriyle yapılan çalışmalar sonucunda *Agregatibacter Actinomycetemcomitans* (A.a), *Porphyromonas gingivalis* (Pg) ve *Tannerella forsythia* (T.f.) periodontitisle ilişkilendirilen bakterilerin başında gelmektedir.<sup>(24)</sup>

Bakteriyel plak, periodontal hastalığın çoğu formunda birincil etiyolojik ajan olarak belirtilmiş olsa da hem mikrobiyal hem de konakçı bileşenleri değiştirebilen lokal ve sistemik faktörler vardır. Lokal faktörler plak birikimini ve olgunlaşmasını desteklerken sistemik faktörler konağın immün yanıtını modüle edebilir.<sup>(25)</sup>

## 2.2. Dişeti Oluğu Sıvısı

Dişeti oluğu sıvısı, diş ve dişeti arasında lokalize olan dişeti cebinde (sulkus) biriken ve bölgedeki epitel hücrelerinin altındaki damarların geçirgenliğindeki artış sonucu açığa çıkan fizyolojik bir sıvıdır.<sup>(11)</sup> Sağlıklı dişeti cebinde biriken DOS miktarı oldukça düşüktür fakat periodontal enflamasyon sonrasında damar geçirgenliğinin artmasından dolayı bu miktar artar. DOS miktarı mikrolitre ( $\mu$ l) ile ölçülmektedir. Periodontal dokular sağlıklı oldukları durumlarda DOS'ta biriken sıvı miktarı, sığ ceplerde 3-8  $\mu$ l/saat, orta seviyedeki periodontal ceplerde ortalama 20  $\mu$ l/saat ve derin periodontal ceplerde 137  $\mu$ l/saat olarak tespit edilmiştir.<sup>(26)</sup>

DOS'un içeriği incelendiğinde, epitel, bakteri veya konak kaynaklı hücresel elemanlar, proteinler, antikorlar, antijenler, enzimler, sitokinler (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ), büyüme faktörleri, bağ dokusu proteinleri (kollajen propeptitleri) ile K, Na, Ca gibi

elektrolitlerin yer aldığı gösterilmiştir.<sup>(27, 28)</sup> Aynı zamanda içeriğinde Ig'lerde bulunmaktadır. Ağızdaki bulunan antikorların kaynağını DOS ve tükürük oluşturur.<sup>(29)</sup>

DOS ağız ortamındaki maddelerin dişeti cebine girişini engelleyerek bariyer görevi görürken aynı zamanda dişeti cebini yıkama etkisindedir. Plazma kaynaklı proteinlerin etkisiyle epitelyal atışmanın diş tutulumunu güçlendirir. Bununla birlikte DOS antibakteriyel etkiye de sahiptir.<sup>(30)</sup>

DOS miktarı ve içeriğinin analizi, periodontal hastalıkta rol oynayan biyobelirteçlerin tespitinde ve bunların konak mikroorganizma etkileşimindeki rolünü belirlemede büyük öneme sahiptir. 1960 yılından bu yana yapılan çalışmalarda, DOS'un içeriğinin değerlendirilmesinin, periodontal hastalıkların daha iyi anlaşılmasında, yol gösterici olduğu vurgulanmıştır.<sup>(31)</sup>

### **2.3. Periodontal Mikrobiyoloji**

Periodontal hastalıklarda, bakterilerin doğrudan yıkıcı etkileri vardır. Bununla birlikte doku yıkımının büyük bir kısmını oluşturan enflamatuvar yanıtı tetiklerler.<sup>(32)</sup> Yapılan çalışmalar, periodontitisin, bir veya birkaç belirli bakteri türüne dayandırılan bakteriyel bir enfeksiyondan ziyade disbiyotik hastalık olduğunu göstermiştir.<sup>(33, 34)</sup>

Disbiyozis bir bakteriyel ekosistem içindeki türlerin miktarındaki veya etkisindeki değişiklikleri içerir. Patojen bakteriler ile patojen olmayan bakteriler arasındaki denge bozulur. Bu durum doğal ve kazanılmış bağışıklığın unsurlarını içeren yıkıcı enflamasyona yol açar.<sup>(35)</sup> Sağlıklı bireylerdeki subgingival plak incelendiğinde periodontal patojenlerin miktarı son derece az gözlemlenir. Sağlık durumunda baskın olan sakkarolitik gram pozitif türler, gram negatif bakterilerin çoğalması için uygun koşulların oluşmasını engeller. Plakın uzaklaştırılmaması ve belli bir olgunluğa erişmesi sonrası, iltihap yanıtı başlar ve DOS akımı artar. Subgingival floraya DOS tarafından farklı protein ve glikoproteinlerin taşınması ile proteolitik bakteriler olan periodontopatojenlerin sayısı zamanla artar ve pH yükselir.<sup>(36)</sup>

Diş yüzeyi temizlendikten sonra, diş yüzeyine tükürükten ve dişeti oluşu sıvısından kaynaklanan glikoproteinlerin çökmesiyle, pelikül meydana gelir. Bakterilerin hücre yüzeylerinde bulunan elektrik yüklü moleküller ile pelikül kaplı yüzeydeki elektriksel moleküller arasında zayıf ve uzun mesafeli fiziksel çekim gücü oluşur.<sup>(37)</sup> Erken

kolonize olan bakteriler sahip oldukları adhezin adı verilen moleküller ile kazanılmış pelikıldaki reseptörlere bağlanırlar.<sup>(38)</sup> Bu bakterilerin ağırlıklı olarak *Streptococcus* türleri olduğu görülmüştür. Kazanılmış pelikıla tutunmaları, üzerlerindeki lektin benzeri adezinlerinin, tükürük glikoproteinlerinin alfa galaktosid reseptörlerine bağlanmasıyla meydana gelir.<sup>(39-42)</sup> *Streptococcus* türleri, yüksek derecede koagregasyon gösterirler ve erken kolonize olarak egemen halde bulunurlar.<sup>(43, 44)</sup> Kazanılmış pelikıla bağlanan diğer türler arasında, *Actinomyces* ve *Veillonella* türleri bulunmaktadır.<sup>(45)</sup>

Biyofilm gelişmeye devam ettikçe zorunlu anaerob gibi daha zor üreyen yeni türler yapıya dahil olurlar. Bu bakterilerin hücre yüzeylerindeki adezinler, önceden plağın yapısını oluşturmuş olan erken kolonize olmuş bakterilerin reseptörlerine koagregasyon ile bağlanır.<sup>(46)</sup>

Daha karmaşık bir yapıya bürünen dental biyofilimde sayısal olarak daha belirgin hale gelen gram negatif türlere *Fusobacterium nucleatum* hakimdir.<sup>(47)</sup> Bu tür, *P. gingivalis*, *Treponema denticola*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *Eubacterium*, *Selenomonas* ve *Actinomyces* türlerinin dahil birçok bakteri ile koagregasyon gösterebilir.<sup>(40, 48, 49)</sup> Bu türün birden fazla farklı türle koagregasyonu ve tükürük pelikılına bağlanma yeteneği, karmaşık dental biyofilmlerdeki baskınlığını açıklamaktadır.<sup>(40)</sup>

Bakteri morfolojileri ve floresans yoğunluklarındaki farklılıklara dayanarak subgingival plak incelendiğinde yapışık, yapışık olmayan ve epitel ile bağlantılı olmak üzere üç katman ayırt edilmiştir.<sup>(50)</sup> Yapışık plak dişe bağlıdır ve diş taşı, kök çürüklerinden sorumludur.<sup>(51)</sup> Bu katmanda gram pozitif koklar ve çomaklar baskın durumdadır.<sup>(51)</sup> Yapışık olmayan plak apikale doğru uzanır ve *P. gingivalis*, *T.denticola* gibi temel periodontal patojenleri içerir.<sup>(50)</sup> Epitel ile ilişkili plak gevşek yapıdadır ve gram negatif bakterilerle hareketli çomaklardan oluşur. Bu bölge bakterilerin bağ dokusuna yayılmasında önemli rol oynar. Plağın bittiği yer ile epitelyal ataşman arasında plağın bulunmadığı bölge gözlemlenmiştir.<sup>(52)</sup>

2012 yılında Hajishengallis ve arkadaşları tarafından “Kilit taşı hipotezi” tanımlanmıştır. *P. gingivalis*’in çok düşük miktarda bulunmasına rağmen disbiyozis ve konak immün yanıtı bozması ile periodontal hastalıklarda kilit patojen olduğunu

ileri sürmüşlerdir.<sup>(53)</sup> *P. gingivalis* kemotaktik maddelerin indüksiyonunu geçici olarak durdurularak bölgeye nötrofillerin göçünü geciktirir.<sup>(54)</sup> Aynı zamanda en önemli virülans faktörü olan Lys-gingipain ve Arg-gingipain ile IL-8'i parçalayabilir.<sup>(55)</sup> Bu sayede hem savunma hücrelerinden kaçır hem de diğer bakterilerin kolonizasyonuna yardımcı olur.

#### 2.4. Periodontal Patogenez

Plağın birikmesinden hemen sonra, lipopolisakkarit (LPS) ve peptidoglikan (PGN) dahil olmak üzere bakterilerin yapısal molekülleri, konak bağışıklık sistemi ile etkileşime girer.<sup>(56)</sup> LPS ve PGN gibi bakteriyel yapılar patojen ile ilişkili moleküler paternler (PAMP) olarak adlandırılırlar. Bağışıklık sistemi hücrelerinin yüzeyinde PAMP'ları tanıyan patojene hızlı bir şekilde yanıt verilmesi görevini yerine getiren patern tanıyan reseptörler (Pattern recognition receptors-PRR) bulunur.<sup>(57)</sup> Şu anda dört farklı PRR sınıfı tanımlanmıştır. Bu reseptörler arasında en önemlileri olan Toll-benzeri reseptörler (TLR'ler) doğal ve kazanılmış immün yanıtın uyarılmasında ve düzenlenmesinde rol oynar.

Bakteriyel ürünlerin bağlantı epiteline sızması ile enflamatuar yanıtın ilk aşaması yani vasküler kısmı başlar. Bu C3a C5a anafilotoksinlerinin üretimi ile sonuçlanır. Anafilotoksinler dokunun içerisindeki mast hücrelerinden vazoaktif aminlerin salgılanmasına yol açar. Çeşitli sitokinler lökotrien, histamin, kinin, bradikinin, prostoglandinler gibi vazoaktif maddelerin salgılanması damarlarda vazodilatasyona, ardından damarsal permeabilite artışına sebep olur.<sup>(58)</sup> Enflamasyonun vasküler fazı, mikrosirkülasyonu etkiler. Bunun sonucunda gingival kapillerden sıvı sızıntısı meydana gelir. Polimorfonükleer lökositler damar dışına çıkar ve hücre açısından zengin enflamatuar eksüda oluşturur.<sup>(59)</sup> Bu enflamatuar eksüdanın üretimi, akut enflamatuar yanıtın başladığını işaret eden bir göstergedir.<sup>(59)</sup>

Dolaşımdaki lökositlerin bölgeye gidişi, kılcal endotel hücreleri üzerinde integrin ve selektin sınıfı adezyon moleküllerinin ekspresyonu ile uyarılır.<sup>(60)</sup> Nötrofillerin bölgeye gidişinin ilk adımı geçici yuvarlanma hareketidir. Nötrofiller üzerindeki selektin ligandlarının endotel hücreleri üzerindeki P- veya E-selektine bağlanması bu olaya aracılık eder.<sup>(61)</sup> Periferik kandaki hücreler 2000 mm/s 'ye kadar hızlarda hareket ederler. Hücreler ile endotel arasındaki ilk bağlanma güçlü değildir, ancak hücreleri

yavaşlatır ve bu da endotel boyunca “yuvarlanmalarına” neden olur.<sup>(60)</sup> Bu ilk bağlanma, endotelde P- veya E-selektin ile nötrofil yüzeyinde Sialyl-Lewis X (veya Lewis kan grubu antijeni) arasında gerçekleşir.<sup>(60)</sup> Gram-negatif patojenik bakterilerin hücre duvarında bulunan virülans faktörü lipopolisakarit, vasküler endotelial hücreler tarafından E-selektin ekspresyonunu aktive eder ve bu, lökositlerin, özellikle nötrofillerin bağlanmasını ve damarlardan enfeksiyon bölgesine göç etmesini tetikler.<sup>(62)</sup> Çözünebilir E-selektinin endotelial hücreler tarafından salınması ve L-selektinin ayrılması, lökositlerin diapedezini modüle eder.<sup>(62)</sup> LFA-1 (Lymphocyte function-associated antigen 1), nötrofiller üzerindeki ana yapışma molekülüdür.<sup>(63)</sup> Tamamen aktifleştirilmiş LFA-1, Mac-1 ile birlikte yuvarlanmayı durdurur ve nötrofil endotele sıkıca yapışır.<sup>(64)</sup> Adhezyon sağlandıktan sonra, transendotelial göç iki farklı yolla gerçekleşebilir. Birincisi endotel hücresine direk olarak nüfuz ettiği transselüler yol, ikincisi ise nötrofillerin endotel hücreleri arasında sıkışarak geçtikleri paraselüler yoldur.<sup>(65)</sup> Paraselüler veya transselüler göçe rehberlik eden kilit oyuncular yine ana nötrofil b2 integrinleri LFA-1 ve Mac-1 ve bunların ligandları ICAM-1 ve ICAM-2'dir.<sup>(65)</sup>

Lökositler bağ dokusuna geçtiklerinde enflamasyon bölgesine ulaşmaları kemotaksi denilen, kimyasal bir olayla meydana gelir. Nötrofiller, belli bir doğrultuda eksprese edilen kemotaktik maddelere yanıt olarak enflamasyon bölgesine gider.<sup>(60)</sup> IL-8, nötrofiller için spesifik kemotaktik madde olarak işlev görür. Kemotaktik maddeler ve kaynakları Tablo 2.1'de listelenmiştir.<sup>(60)</sup>

**Tablo 2.1.** Nötrofil, monosit, makrofajlar için kemotaktik maddeler.<sup>(60)</sup>

<b>Kemotaktik madde</b>	<b>Karakteristik</b>	<b>Kaynak</b>
<b>C5a</b>	77- amino asit- peptid	Klasik yada alternatif yolla kompleman aktivasyonu
<b>Platelet active edici faktör (PAF)</b>	Vasküler permeabilite artışı, nötrofil aktivasyonu	Plateletler, lenfositler
<b>Lökotrien B4</b>	Lipooksijenaz yolu ile araşidonik asit metaboliti	Nötrofiller, Makrofajlar, Eosinofiller,
<b>İnterlökin 8</b>	10-kDa protein	Bağlantı epiteli hücreleri, mononükleer fagositler

Doğal bağışıklık yanıtında sonraki aşama bakteri, yabancı maddeler, ve ölü dokuların ortadan kaldırılma işlemi yani fagositozudur. Fagositozu arttıran, antijenlerin tanınmasına yardım eden temel olay opsonizasyondur. Fagosit edilecek yabancı cisimler opsonin ile kaplanır bu da fagositoz yapan hücreler tarafından tanınır. Lökositlerde opsoninleri tanıyan reseptörler bulunmaktadır. IgM, IgG antikorları patojeni kaplamaları ile fagositozu arttırır.<sup>(32)</sup> C3b kompleman ürünü de patojeni kaplayarak fagositik hücre üzerindeki CR1 reseptörüne bağlanabilir.<sup>(32)</sup> Fagositik hücrelerin üzerinde bu opsonizanları tanıyan Fcy, CR1, CR3 reseptörleri bulunmaktadır.<sup>(32)</sup>

Nötrofil, bakteriyel yüzeye bağlı opsoninleri tanır ve mikroorganizmaları sitoplazma zarının hücre içine doğru invajinasyonu yoluyla fagozom oluşturarak yutar. Fagozomlar, ortamın asitleştirilmesi ve antibakteriyel ürünlerin granüllerden salınması yoluyla bakterileri öldüren lizozomlarla füzyona uğrar.<sup>(66)</sup>

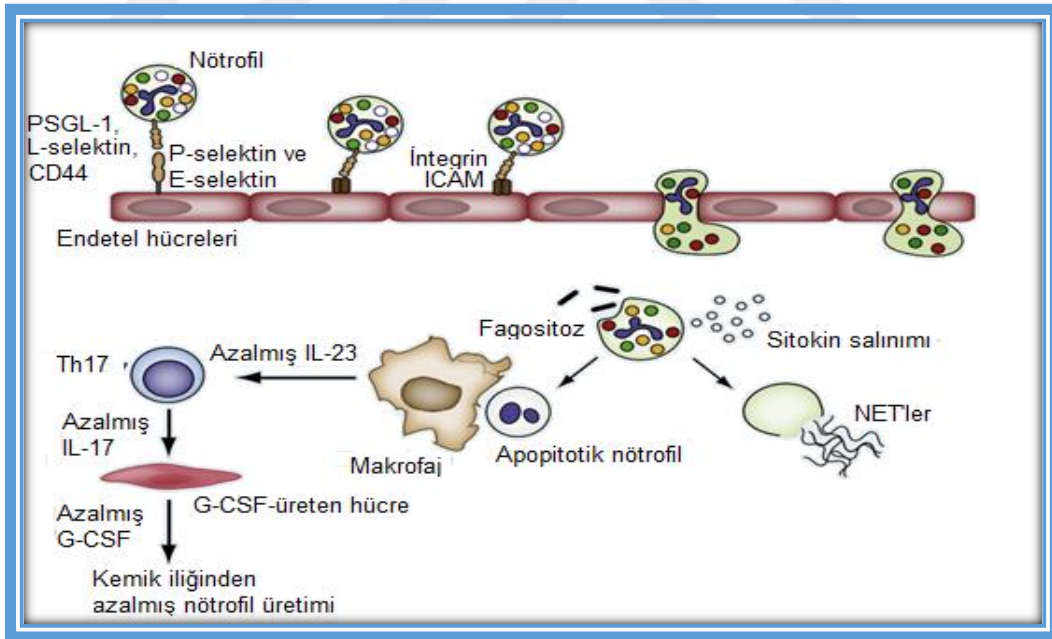
Bakterileri öldürmek için nötrofiller hem oksijene bağlı hem de oksijenden bağımsız araçlar kullanabilir.<sup>(32, 66)</sup> Oksijene bağlı öldürme, NADPH oksidaz sisteminde reaktif oksijen ara maddelerinin üretilmesi ile gerçekleşir<sup>(66)</sup>. Lökosit reaktif oksijen metabolitleri üretmek için oksijeni kullanır. Bunun sonucunda hidrojen peroksit, süperoksit iyonu, oksijen ve hidrosil radikalleri gibi reaktif oksijen metabolitleri ortaya çıkar. Bunlar da bakterilerin öldürülmesinde görev alır. Bu öldürme mekanizması hücre içi öldürme olarak adlandırılır ve bakteriyel hücre ölümünden sorumlu enzimlerin salınımı ile sonuçlanır.<sup>(60)</sup>

Oksijenden bağımsız öldürme, nötrofil sitoplazmasında bulunan granüllerdeki bakterisidal moleküllerin kullanılmasına dayanır. Bunlar birincil (azurofilik granüller), ikincil (spesifik) ve jelatinaz içeren olmak üzere üç tanedir.<sup>(66)</sup> Hücre dışı öldürme olarak adlandırılan bu öldürme, miyeloperoksidazlar, hidrolazlar, proteazlar, elastazlar ve kollajenazların etkisiyle normal doku ve hücreleri yok edebilir.<sup>(60)</sup>

Nötrofiller patojeni yakalayan ve öldüren nötrofil ekstrasellüler tuzak (nötrofil ekstrasellüler trap-NET) olarak adlandırılan yapıların salınımını da yapar.<sup>(67)</sup> NET'ler hem gram pozitif hem de gram negatif patojenlerle ilişkilidir ve enflamasyon bölgesinde bolca gözlemlenmiştir.<sup>(67)</sup> Aynı zamanda patojenlere karşı savunmanın ilk

adımını temsil eder. Bakteri öldürmeden sorumlu faktörler, bakterisidal geçirgenlik artırıcı protein (BPI), kromatin yapılar ve histonlar gibi proteinlerdir.<sup>(67)</sup>

NET'ler, nötrofiller düşük serum konsantrasyonlarında aktive edildiğinde oluşur.<sup>(68)</sup> NET oluşumu, NADPH oksidaz tarafından üretilen hidrojen peroksite bağlıdır.<sup>(65)</sup> Nitrik oksidin son zamanlarda miyeloperoksidaza bağlı olarak NET'leri indüklediği gösterilmiştir, ancak aktif türler tanımlanmamıştır.<sup>(69)</sup> Aynı zamanda NET'ler, LPS, IL-8 ve TNF (tümör nekroz faktörü) gibi çeşitli pro-enflamatuar uyarıların yanı sıra çeşitli mikroorganizmalar ve patojenler tarafından indüklenebilir.<sup>(70)</sup> Uyarıldıktan sonra çekirdek, lobüler şeklini kaybeder ve ökromatin ile heterokromatin homojen hale gelir.<sup>(68)</sup> Daha sonra nükleer ve granüler membranlar parçalanır ve çeşitli NET bileşenleri hücre dışı boşluğa bırakılır.<sup>(71)</sup> Fuchs ve arkadaşları, benzersiz, önceden tanınmayan bir hücre ölümü biçiminin (NETosis) NET'lerin kurulmasından sorumlu olduğunu açıklamışlar.<sup>(71)</sup> ve NETosis'in apoptoz ya da nekroz olmadığını ileri sürmüşlerdir.<sup>(71)</sup> Bu çalışmalar NET'leri nötrofil fizyolojisinin ve doğal bağışıklığın önemli bir bileşeni olarak belirlemiştir.<sup>(68)</sup>



Şekil 2.1. Aktif Nötrofiller.<sup>(65)</sup>

**Tablo 2.2.** Aktif nötrofillerin immünofloresan boyama modeli.<sup>(67)</sup>

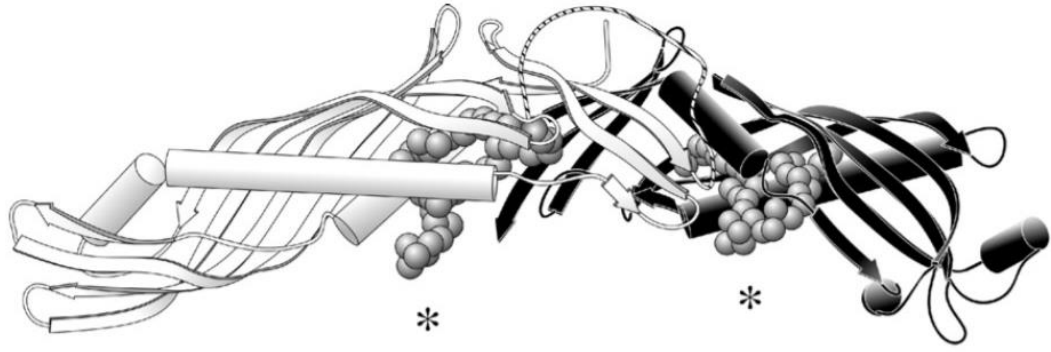
Protein	Hücresel Lokalizasyon	NET Kapsamı
<b>NE</b>	Azurofilik granüller	+
<b>MPO</b>	Azurofilik granüller	+
<b>katapsin G</b>	Azurofilik granüller	+
<b>BPI</b>	Azurofilik granüller	+
<b>Laktoferin</b>	Spesifik granüller	+
<b>Jelatinaz</b>	Üçüncül granüller	+
<b>H1</b>	Çekirdek	+
<b>H2A</b>	Çekirdek	+
<b>H2B</b>	Çekirdek	+
<b>H3</b>	Çekirdek	+
<b>H4</b>	Çekirdek	+
<b>CD 63</b>	Granül membranı	-
<b>aneksin I</b>	Sitoplazma	-
<b><math>\beta</math>-katenin</b>	Sitoplazma	-
<b><math>\alpha</math>-tubulin</b>	Sitoplazma	-
<b>f-aktin</b>	Çeper	-
<b>sitokrom C</b>	Mitokondri	-
<b>Ana bileşen: DNA</b>		

#### 2.4.1. BPI (Bactericidal Permeability-Increasing Protein)

Bakterisidal geçirgenlik artırıcı protein (BPI), insanlarda bulunan katyonik, antimikrobiyal polipeptittir.<sup>(72)</sup> BPI esas olarak kemik iliğinde, nötrofillerin (granülositlerin) miyeloid öncüllerinde eksprese edilir ve birincil (azurofilik) granüllerde saklanır.<sup>(73)</sup> Hücre içi bakteriyel öldürme amacıyla ya da hücre dışı enflamatuar eksudaya katkı yapmak amacıyla fagositik vakuollere taşınır.<sup>(73)</sup>

BPI, kristal yapı olarak bumerang şeklinde iki parçalı bir moleküldür.<sup>(74)</sup> Bu parçalardan biri molekülün antibakteriyel ve lipopolisakarit (LPS; endotoksin) nötralize edici aktivitelerini içeren katyonik, lizin açısından zengin N-terminal

kısmıdır.<sup>(75)</sup> Diğer tarafta BPI'nin opsonik aktivitesine katkıda bulunan C-terminal yapısı bulunur.<sup>(76)</sup>



#### **Amino-terminal Kısım**

**Antibiyotik Aktivite**  
**Endotoksin Nöralizasyonu**  
**Antianjiyogenetik Aktivite**

#### **Karboksi-terminal Kısım**

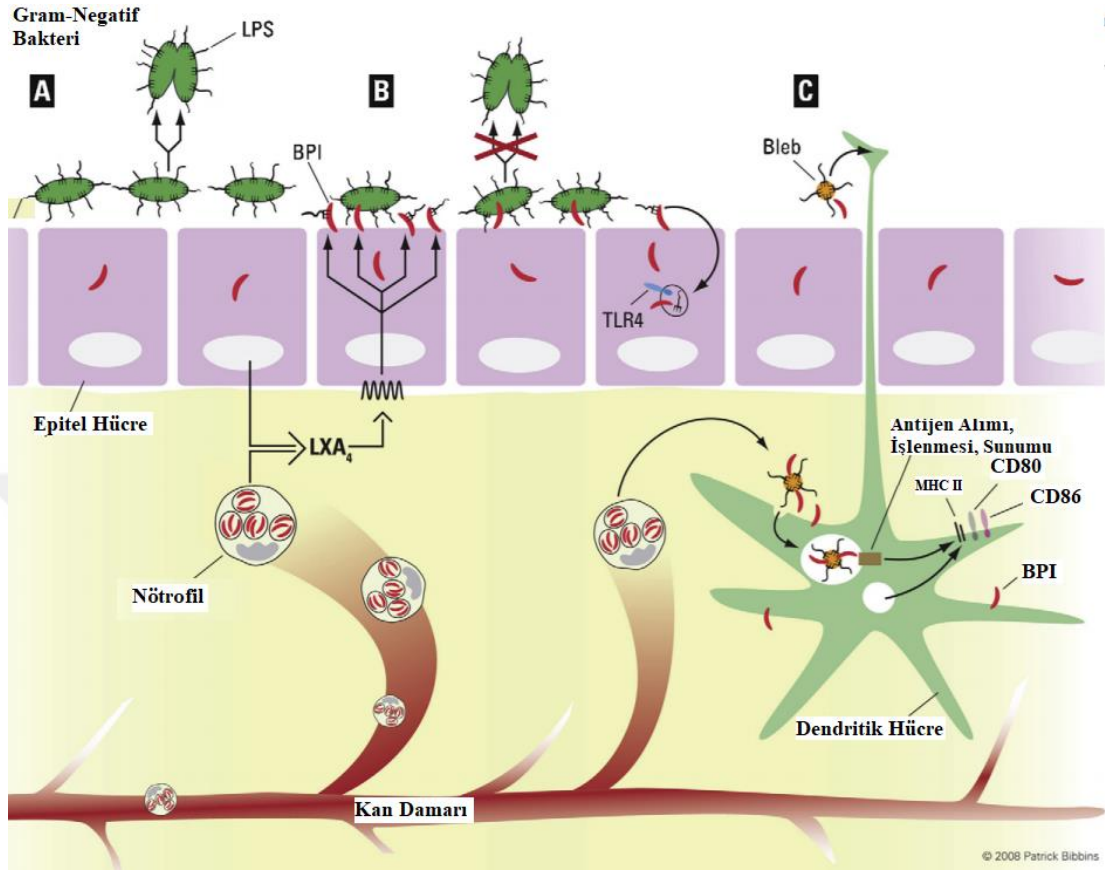
**Opsofagositozis**  
**LPS/BPI Komplekslerinin**  
**Bulunması ve İmha Edilmesi**

**Şekil 2.2.** BPI yapısı ve işlevi. Amino ve karboksi terminal bölgeleri ile ilişkili ana antibakteriyel fonksiyonlar gösterilmektedir.<sup>(77)</sup>

BPI, lipopolisakkaritteki lipid A kısmı için yüksek afiniteye sahiptir bu da gram negatif bakterilere sitotoksik aktivite gösterir.<sup>(78)</sup> BPI'nin gram-negatif bakterilerdeki dış membrana bağlanmasının ardından, zamana bağlı iç membrana nüfuz eder. Membran bütünlüğünü bozar, elektrokimyasal gradyanların dağılmasına ve bakterinin ölümüne yol açar.<sup>(79)</sup> Bu nedenle, BPI, sitokin salınımının uyarılması, nötrofil oksidaz enziminin aktivasyonu ve NO oluşumu dahil olmak üzere LPS'nin proenflamatuar aktivitelerini inhibe edebilir.<sup>(80, 81)</sup> BPI'nin aktiviteleri, kompleman sistemi ve fosfolipaz A2 dahil olmak üzere hücre dışı faktörlerle güçlendirilir.<sup>(82)</sup> Defensin ve katelisidin gibi antimikrobiyal peptidler, BPI'nin antibakteriyel aktivitesini sinerjik olarak artırır.<sup>(83)</sup>

Yapılan çalışmalarda apikal ve bazolateral epitel yüzeylerinde ve deri altı bağ dokusundaki dermal fibroblastlarda BPI saptanmıştır.<sup>(84-86)</sup> Oral, gastrointestinal kanal epitel hücreleri, bir lipoxin (LX) analogu olan LXA4'e maruz kalmaları sonucu BPI eksprese eder.<sup>(87, 88)</sup> Epitel hücreleri, insanlarda bu proteinin ana kaynağı olan nötrofillere nazaran daha az BPI içerirler.<sup>(16)</sup> Epitelyal BPI bakteriyel öldürmeye ve

bakteri kaynaklı proenflamatuar sinyallerin zayıflamasına önemli ölçüde katkıda bulunabilir.<sup>(16)</sup>



Şekil 2.3. Mukozal yüzeylerdeki BPI ve ilişkili proteinlerin potansiyel rolleri.<sup>(89)</sup>

Bütün bu veriler gram negatif periodontal patojenlerin neden olduğu periodontitise sahip bireylerde, dişeti oluğu sıvısındaki BPI düzeylerinin değerlendirilmesini ve sağlık durumu ile arasındaki farklılıkların araştırılmasını değerli kılar.

#### 2.4.2. Başlangıç Lezyonu

Başlangıç lezyonu plak birikimini takiben 2-4 gün arasında oluşan subklinik lezyondur ve yukarıda anlatılan akut enflamatuar yanıtta hücresel olayların yansımasıdır. Bunlar ödem oluşumu, DOS artışı, PNM (Polimorfonükleer lökosit) toplanması, ve bağ dokusu kaybıdır. Plak dişeti kenarına bitişik olarak birikir birikmez, enflamatuar infiltratın bağ dokusu içine sızıntısı görülür.<sup>(90)</sup> 3-4 gün içinde, iltihaplanma yanıtı, bağ dokusu yıkımını başlatabilecek seviyeye ulaşmıştır ve iltihaplanma odakları içinde yüzde 70'e kadar kollajen yıkılır.<sup>(91)</sup> Durdurulmassa, enflamatuar yanıt ve ilişkili doku

yıkımı periodontal ligament ve alveolar kemiğe doğru derinleşir. Bu yıkımla eşzamanlı olarak, iltihap odaklarında fibroz ve skar oluşumu ile sonuçlanan onarım meydana gelir.<sup>(90)</sup>

DOS artışı, bakterileri ve ürünlerini sulkustan uzaklaştıran yıkama etkisine sahiptir. Fakat bakteriyel biyofilmin doğası göz önüne alındığında bu yolla esasen sadece planktonik (serbest yüzen) bakterilerin uzaklaştırılması muhtemeldir.

### 2.4.3. Erken Lezyon

Plağın birikmesinden 4-7 gün sonra oluşan erken lezyonda, başlangıç lezyonunda yoğun bulunan nötrofillerin yerini lenfositlere bıraktığı gözlenmektedir.<sup>(92)</sup> Daha önceden bölgede bulunmayan yeni kapil yatakları oluşmaya başlar. Epitel hücrelerinin arasındaki intersellüler mesafenin artmasından dolayı dokulara bakteri ürünü akışı artar.<sup>(92)</sup>

İmmünohistolojik analizler, lezyonun bir T hücresi yanıtı olduğunu göstermiştir. Lökositler birleşim epitelinin marjinal kısmında apikal kısımdan daha fazladır.<sup>(93)</sup> 4. ve 8. günlerde infiltratın yüzde 65'inden fazlasını lenfositler oluşturur.<sup>(94)</sup> PMN'lerin miktarı hafifçe artmasına rağmen yüzde 10'dan azdır ve plazma hücrelerinin oranı ise yüzde 5'in altındadır.<sup>(94)</sup> 21. Günde PMN sayılarının genele oranı yüzde 10 dan daha düşük iken lenfositler infiltratın yüzde 70 ini oluşturur.<sup>(93, 95)</sup>

Dişeti oluğundaki savunma hücre topluluğunu polimorfonükleer lökositler oluşturur.<sup>(96)</sup> Plağın birikmeye devam etmesi sulkusa PNM göçünü artırır.<sup>(62)</sup> PMN'ler konak ile biyofilm arasındaki dengeyi kurmak ve bakterilerin doku invazyonunu önlemek için, dişeti oluğuna göç ederek, subgingival plağa karşı bariyer oluşturur.<sup>(60, 62)</sup>

İnfiltrattaki baskın T hücrelerinde, CD4 T hücrelerinin CD8 T hücrelerine oranı 2:1'dir. CD4 (Th) ve CD8 (Tc), sırasıyla MHC sınıf-II (HLA-DR, DQ, DP ve I-A/I-E) ve sınıf-I (HLA-A, B, C ve H-2) antijenlerinin tanınmasında rol oynayan membran glikoproteinlerdir.<sup>(97)</sup>

Th (yardımcı T hücre) hücre popülasyonu, Th1, Th2 ve Th17 hücreleri, düzenleyici T hücreleri ve foliküler yardımcı hücreler gibi farklı hücre alt kümeleri ile karakterizedir. Th1, IL-2 ve INF- $\gamma$  üreterek hücrel bağışıklığa katkıda bulunurken, Th2 ise IL-4, IL-

5, IL-10, IL-13 üretir ve B hücrelerinin hakim olduğu humoral bağışıklık yanıtını yönetir.<sup>(98)</sup> Buna karşılık sitotoksik T hücreleri (Tc CD8) IL-10 ve INF- $\gamma$  üretebilmektedir.<sup>(99)</sup>

**Tablo 2.3.** CD4-pozitif T-hücrelerinin gelişim yolları, işlevleri ve periodontitis ile ilişkileri.<sup>(61)</sup>

	İndüktif sitokin	Anahtar Transkripsiyon Faktörleri	İşaret sitokin	Fonksiyon	Hedef	Önem (aşırı aktivasyon)	Periodontistteki olası rol
	IL-12	T bet	IFN $\gamma$	Hücre aracılı adaptif immünite	İntrasellüler patojenler (virüs, bakteri)	Gecikmiş tip hipersens., Otoimmünite	Koruyucu ve yıkıcı etkiler
	IL-4	Gata3	IL-4 IL-5 IL-13	Hücre aracılı adaptif immünite	Ekstrasellüler patojenler (parazit, bakteri)	Alerji	Koruyucu ve yıkıcı etkiler
	IL-21	Ror $\gamma$ 1	IL-17A IL-17F IL-21 IL-22	Nötrofilik enflamasyon ve doğal immünite	Ekstrasellüler patojenler (bakteri, mantar)	Enflamasyon Otoimmünite	Enflamatuvar kemik yıkımına katkı
	IL-6, TGF $\beta$ IL-1, IL-23 TGF $\beta$	Foxp3	IL-10 TGF $\beta$	İmmün regülasyon	Efektör T hücreleri	İmmün süpresyon	Enflamatuvar kemik yıkımına karşı koruma

Yüksek antijen yakalama kapasitesine sahip antijen sunan dendritik hücreler, antijeni içlerine alırlar. T0 ve Th hücrelerine sunmak amacıyla lenfatik dolaşıma çıkar ve lenf nodlarına göç eder.<sup>(100)</sup> Dendritik hücrelerin ürettiği TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ve benzeri sitokinler Langerhans hücrelerini aktifleştirir.

CD4 Th hücreleri tarafından üretilen INF- $\gamma$ , mikroorganizmaların nötrofiller ve makrofajlar tarafından fagositozu, hücre içi öldürmeyi, NET oluşumunu ve sitokin üretimini artırarak enflamasyonu kontrol altına almaya çalışır.<sup>(101)</sup> Gingivitis iyi kontrol altına alınabilmesine rağmen eğer plak ile olan kontak devam ederse, kolajen kaybına ataşman kaybı eşlik etmeye başlar.

#### 2.4.4. Yerleşik Lezyon

Yerleşik lezyon kronik gingivitisten periodontise geçişin olduğu ve birleşim epitelinin apikale göçünün gözlemlendiği aşamadır. Yerleşik lezyon plazma hücrelerinin baskın hücre tipi olduğu büyük lökosit infiltrasyonları içerir. Plazma hücrelerinin bu lezyonlardaki hücrelerin yaklaşık% 50'sini temsil ettiği, B hücrelerinin ise yaklaşık yüzde 18 oranında olduğu bildirilmiştir.<sup>(102)</sup> B hücrelerinin oranı tüm T hücrelerinin oranından daha fazladır ayrıca T yardımcı hücreleride T sitotoksik hücrelerinden daha fazla sayıda görülür.<sup>(102)</sup>

PNM'ler, cep epitelinde, epitel boyunca plak ile epitel arasında bariyer oluşturmaya çalışır, bu yüzden cep içerisine devamlı PNM göçü izlenir.<sup>(60, 62)</sup>

Gelişen periodontitis lezyonunun önemli bir özelliği, birleşim epitelinin apikal göçü ve eşzamanlı olarak cep epitelinin oluşumudur. Bu önemli patolojik süreç, önemli ölçüde değişen bağ dokusu içerisinde gelişen hücre proliferasyonu ve hücre göçünden kaynaklanır.<sup>(90)</sup> Bu işlemle özellikle ilgili olan integrinlerin ve diğer hücre yüzeyi adezyon moleküllerinin ekspresyonudur.<sup>(103)</sup>

#### **2.4.5. İlerlemiş Lezyon**

İlerlemiş lezyon, periodontitisin daha da çok şiddetlendiği evredir. Bu evrede dokulardaki hücre kompozisyonu, yerleşik lezyondakine benzer olarak, B hücreleri ve plazma hücreleri ağırlıkta olacak şekildedir. Plazma hücrelerinin ve B hücrelerinin oranları şiddetli periodontitis bölgelerinden elde edilen lezyonlarda orta veya hafif periodontitisli bölgelerdeki lezyonlardan daha yüksek görünmektedir.<sup>(102)</sup> Bu da periodontitis şiddeti arttığında enflame bölgedeki plazma hücreleri ve B hücrelerinin sayılarının da arttığını gösterir. Enflamatuar sızıntı genellikle periodontal ligamanın içine uzanmaz. Bunun yerine alveolar kemik rezorpsiyonu meydana gelir ve bağ dokusu hücre dışı matriksi yok edilir.<sup>(62)</sup> Burada enflame ve infiltre olmamış fibröz bir bağ dokusu lezyonu sarar ve enflamasyonu sınırlar.<sup>(62)</sup> Altta yatan kemik ve periodontal ligaman enflame değildir. Hastalık ilerledikçe fibröz bağ dokusu, enflamatuar hücrelerin yoğun bulunduğu infiltratla yer değiştirir ve alveolar kemik yok edilir.<sup>(62)</sup>

#### **2.4.6. B Hücreleri**

B lenfositler humoral bağışıklıkta önemli bir rol oynar. Kemik iliğinde üretildikten sonra lenfoid dokulara gider. B hücreleri antijeni diğer profesyonel antijen sunan hücrelerden farklı olarak (Langerhans hücrelerinin, makrofajların ve dendritik hücrelerin pinositoz veya bağışıklık kompleksi reseptörleri yoluyla antijeni yakalaması) hücre zarındaki bir immünoglobulin reseptörü (B-hücresi reseptörü) ile yakalar.<sup>(102)</sup>

Antijene spesifik bağışıklık tepkileri sırasıyla B hücrelerinin aktivasyonu, proliferasyonu, olgunlaşması, izotip değişimi ve antikör salgılayan plazma hücrelerine

farklılaşma ile sonuçlanır.<sup>(102)</sup> B hücrelerinin üretilen antikorun doğasına bağlı olarak koruyucu veya koruyucu olmayan antikor üreten plazma hücrelerine farklılaşmaları Th2 hücreleri yardımıyla gerçekleşir.<sup>(62)</sup> B hücre aktivasyonu immunoglobulin/antikor üretimi yanında, doku yıkımına katkıda bulunan birçok sitokinin yüksek miktarlarda üretilmesine neden olur. Periodontitisteki IL-1'in ana kaynağının B hücreleri olduğu düşünülmektedir.

Plazma hücreleri tümör nekroz faktörü-a (TNF- $\alpha$ ), IL-6, IL-10 ve transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) gibi sitokinler üretir. TNF- $\alpha$ , matris metalloproteinazların ekspresyonunu indükleyerek hücre dışı matriksin turnoverını düzenlerken, TGF- $\beta$ , bu matris metalloproteinazların (MMP'ler) sentezini ve salgılanmasını baskılar.<sup>(102)</sup>

#### **2.4.7. Matrix Metalloproteinazlar**

MMP, hücre dışı matriksi (ECM) parçalama yeteneğine sahip bir enzim ailesidir.<sup>(104)</sup> MMP'lerin normal fizyolojik koşullarda yetişkin dokularındaki ekspresyonu ve aktivitesi normalde oldukça düşüktür ancak enflamatuvar hastalıklar, tümör büyümesi, periodontitis ve metastaz gibi istenmeyen doku yıkımına yol açabilecek çeşitli patolojik durumlarda önemli ölçüde artar.<sup>(105)</sup> Çoğu MMP ekspresyonu, büyüme faktörleri, hormonlar, sitokinler, hücre matriksi, hücre-hücre etkileşimleri ve hücreSEL dönüşüm ile transkripsiyonel olarak düzenlenir.<sup>(106)</sup> MMP'nin hücre kaynağı esas olarak fibroblastlardır aynı zamanda keratinositler ve makrofajlardan da salgılanabilir.<sup>(104)</sup> MMP aktivasyonu ve aktiviteleri çeşitli yollarla kontrol edilebilir. Bunlardan en önemlileri olan TIMP'ler (Metalloproteinazların doku inhibitörleri), dokulardaki MMP'lerin lokal aktivitelerini kontrol etmeye katılan spesifik inhibitörlerdir.<sup>(107)</sup> Dört tip TIMP (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4) tanımlanmıştır.<sup>(108)</sup>

Periodontitis, romatoid artrit gibi hastalıklarda meydana gelen doku yıkımına MMP ailesinin üyeleri aracılık eder.<sup>(108)</sup> Nötrofillerdeki majör MMPlerden olan MMP8, interstisyel kollajenleri kuvvetli bir şekilde parçalayabilirken, MMP-9, tip IV kollajen dahil olmak üzere birkaç hücre dışı matris proteinini parçalayan jelatinolitik bir enzimdir.<sup>(109)</sup> MMP-8 ve MMP-9, dişeti oluşu sıvısında ve tükürükte ana kolajen parçalayıcı enzimlerdir ve periodontal hastalıklarda kolajen yıkımının temel sorumlusudurlar.<sup>(110, 111)</sup> İlginç bir şekilde nötrofil tipi kollajenaz MMP-8, IL-1

tarafından uyarılan dişeti fibroblastları tarafından salgılanabilir.<sup>(112)</sup> Fibroblastlar tarafından üretilen ana MMP'ler MMP-1 (kollajenaz-1), MMP-13 (kollajenaz-13), MMP-2 (jelatinaz A), MMP-3 (stromelisin-1) ve MT1-MMP'dir (MMP-14).<sup>(109)</sup> Jelatinaz A'nın (MMP-2) iltihaplı cep epitelinde kuvvetli şekilde eksprese edildiği ve epitelyal hücre göçünde önemli olduğu gösterilmiştir.<sup>(113)</sup>

#### 2.4.8. Sitokinler

Sitokinler, polipeptit veya glikopeptid yapıdaki hücreler arasındaki iletişimden sorumlu sinyal molekülleridir.<sup>(114)</sup> Lenfokinler, monokinler, interlökinler ve interferonlar olarak adlandırılan bu protein hücre regülatörleri, vücutta çok çeşitli hücreler tarafından üretilirler, birçok fizyolojik yanıtta önemli bir rol oynarlar.<sup>(9)</sup> Enfeksiyöz ve immünoinflamatuvar reaksiyonların temel araçlarıdır ve son derece düşük konsantrasyonlarda etki ederler.<sup>(114)</sup> Otokrin mekanizmalarda kendilerini üreten hücreler üzerinde etki ederlerken, parakrin mekanizmalarda kendilerini üreten hücrelerin etrafındaki hücrelere etki gösterirler. Sitokinler, sitokin grubuna özgü yüksek afiniteli hücre yüzeyi reseptörleri ile etkileşirler.<sup>(9, 114)</sup> Sitokinler, immunolojik ve enflamatuar yanıtları düzenleyerek hastalıkların patogeneğinde temel rol oynar. Sitokinlerin proenflamatuar (enflamasyonu arttıran), antienflamatuar (enflamasyonu baskılayan), büyüme faktörleri, kemotaktik sitokinler gibi farklı tipleri bulunmaktadır.<sup>(115)</sup> Periodontal hastalıkların klinik belirti ve semptomlarının ortaya çıkmasını sağlayan ve periodontal doku kaybının başlıca nedeni pro-enflamatuar ve anti-enflamatuar sitokin aktiviteleri arasındaki dengesizliklerdir.<sup>(116)</sup>

Çoğu sitokin lokal etki gösterir ancak klinik olarak en önemli sitokinlerin bazıları sistematik etki edebilen ve potansiyel olarak tehlikeli fonksiyonları olan (immünoinflamatuvar hormonlar) pleiotropik hormonlar olarak da hareket eder.<sup>(117)</sup> Bu açıdan en önemli sitokinler, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ , pıhtı oluşumunu ve stabilitesini yöneten fonksiyonlar da dahil olmak üzere vasküler endoteli etkiler.<sup>(118)</sup>

Interlökin-1 lökositlerde kemotaksi, monosit ve makrofaj aktivasyonu, Matriks metalloproteinazların üretimi, T-hücresi aktivasyonu gibi enflamatuar ve immunolojik olayların düzenlenmesinde rol oynar, ayrıca doku ve kemik yıkımında yönlendirir. TNF- $\alpha$ , IL-1'e benzer şekilde doku yıkımı ve kemik rezorbsiyonunda önemli rol oynar. Endotel hücreleri üzerine etki ederek, nötrofil ve makrofajların enflamasyon bölgesine

göçünü tetikler. Kronik periodontitis hastalarının DOS ve serum'larında TNF- $\alpha$  seviyesinin de yükseldiği, ancak cerrahi olmayan periodontal tedaviden sonra TNF- $\alpha$  'da bir azalma gözlenmediği gösterilmiştir.<sup>(119-121)</sup> Bu sonuçlar TNF- $\alpha$  'nin kemik metabolizmasına katılımıyla açıklar. Yapılan çalışmalar TNF- $\alpha$ 'nın dişeti epitel hücrelerinde, T hücresinde ve osteoblastlarda RANKL ekspresyonunu arttırdığını göstermiştir. TNF-  $\alpha$ , MMP'lere etki ederek bağ dokusunun yıkımı üzerinde katkı gösterir.<sup>(122)</sup> Aynı zamanda, fibroblastlarda apoptozun indüksiyonu ile doku onarımını sınırlar.

İnterferon- $\gamma$ , T hücreleri ve NK hücreleri tarafından salgılanır. Antiviral özellikleri vardır aynı zamanda Tc hücrelerinin aktivitesi, B hücrelerinin proliferasyonunu düzenler.

İnterlökin-12, patojen uyarımı altında makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından salgılanır ve T ve NK hücrelerinde IFN- $\gamma$  üretimini artırır.<sup>(123)</sup> Yapılan çalışmalarda kronik periodontitisli hastalarda DOS IL-12 miktarı, sağlıklı kontrol grubuyla benzer olduğu gösterilmiştir ve cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası arttığı gözlemlenmiştir.<sup>(119, 124)</sup> Ek olarak erken bulgular IL-12 ve IFN- $\gamma$  'nin osteoklastogenezi ve kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiğini ve IL-12'nin enfeksiyon kaynaklı kemik rezorpsiyonuna dahil olmadığını göstermiştir.<sup>(122, 125, 126)</sup>

Transforme edici büyüme faktörü- $\beta$ , aktive olan T hücreleri tarafından üretilir. Makrofajlar için kemoatraktandır aynı zamanda makrofajların IL-1 üretimini aktive eder. TGF- $\beta$  ve İnterlökin-10 (IL-10), Treg hücreleri için ana efektör sitokinlerdir.<sup>(119)</sup> IL-10, antijen sunan hücreler, Th2 hücreleri, ve Th17 hücreleri üzerinde baskılayıcı etkiye sahiptir.<sup>(127-129)</sup> Proenflamatuar sitokinlerin üretimini tetikler ve Treg hücrelerini uyarıcı etki gösterir.<sup>(130, 131)</sup> Buna ek olarak IL-10'un aktive edilmiş T hücrelerinde RANKL ekspresyonunu baskılayabildiği bildirilmiştir.<sup>(132, 133)</sup>

İnterlökin-2, makrofajların proliferasyonu, akut faz cevabı oluşturulmasından sorumludur. Periodontitis hastalarında serumdaki IL-2 ekspresyonunun kontrol grubu ile aynı hatta azalmış olduğu bildirilmiştir.<sup>(134)</sup> Bir hayvan çalışması IL-2 ekspresyonunun deneysel periodontitisin çözülme aşamasında arttığını göstermiştir.<sup>(135)</sup> Bu sonuçlar IL-2'nin periodontitis gelişiminde engelleyici bir faktör olarak hareket ettiğini göstermektedir.<sup>(119)</sup>

İnterlökin-4, T ve B hücre maturasyonu, IL-1ra üretimi, VCAM-1 üretimini tetikleme, IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  üretimini inhibe eder. IL-4'ün kronik periodontitis hastalarında az görüldüğü ve periodontal tedaviden sonra yükseldiği tespit edilmiştir.<sup>(124)</sup> Bu bilgiler IL-4 ve Th2 hücrelerinin periodontitiste koruyucu etkileri olduğunu göstermektedir.<sup>(119)</sup> Ek olarak IL-4'ün pro-enflamatuar sitokinleri baskıladığı ve osteoklastogenezi kısıtlayabildiği bildirilmiştir.<sup>(61, 136)</sup>

İnterlökin-6, dendritik hücreler (DC), makrofajlar, B hücreleri ve T hücreleri ve fibroblastlar, keratinositler ve endotelial hücreler dahil olmak üzere birçok farklı hücreden salgılanır.<sup>(119)</sup> IL-6'nın periodontitisle olan ilişkisi iyi bilinmektedir. 21 çalışmayı içeren bir meta-analizde IL-6 174G/C polimorfizminin, kronik periodontitise yatkınlıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>(137)</sup> Deneysel bir periodontitis hayvan çalışmasında IL-6 ekspresyonunun periodontitisin başlangıç aşamasında arttığı, ancak periodontitisin ilerleyen aşamalarında düşük kaldığını ortaya konulmuştur.<sup>(135, 137)</sup> Bu sonuçlar IL-6'nın esas olarak periodontitisin başlaması ve akut fazında önemli bir rol oynadığını göstermiştir.<sup>(119)</sup>

İnterlökin-8, nötrofillerin, monosit ve T hücrelerinin enflamasyon bölgesine gitmesinden sorumludur. Aynı zamanda kemik rezorpsiyonunu uyarıcı etkisi vardır.<sup>(114)</sup>

#### **2.4.9. IL-1 Ailesi ve IL-1 $\beta$**

İnterlökin-1 ailesi, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL1Ra, IL-18 ve IL-33 dahil olmak üzere 11 üyeden oluşur.<sup>(138)</sup> IL-1 sitokinler, birçok efektör proteinin (sitokinler, kemokinler, nitrik oksit sentetaz ve matris metaloproteinazlar) salınımını arttırarak immün regülasyonunda ve enflamatuar yanıtta önemli rol oynar.<sup>(139)</sup> Bu araçların aşırı ve/veya düzensiz aktivitesi doku yıkımı ile ilişkilidir. Bu nedenle IL-1 sitokinlerinin sentezi, salgılanması ve biyolojik aktivitesi, romatoid artrit (RA) ve periodontitis gibi yaygın enflamatuar bozukluklar için terapötik hedefler olarak tanımlanmıştır.<sup>(140)</sup> Çeşitli proenflamatuar mediyatörler, IL-1 sitokin transkripsiyonunu indükler; bunlar arasında lipopolisakkarit (LPS) gibi patojene bağlı moleküler modeller (PAMP'ler) ve TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$  ve IFN- $\beta$  ve IL-1 $\beta$  gibi proenflamatuar sitokinler bulunur.<sup>(141)</sup>

IL-1 $\beta$  (IL-F2), inflamasyonun en belirgin araçlarından biridir. IL-1 reseptörü l'e bağlanma yoluyla ateş ve bağışıklık aktivasyonu yapar.<sup>(142)</sup> IL-1 $\beta$  esas olarak

makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından salınır. Bununla birlikte, dişeti fibroblastları, periodontal ligament hücreleri ve osteoblastlar da IL-1 $\beta$  salgılayabilir.<sup>(143,144)</sup> Aktif olmayan öncü, pro-interlökin-1 $\beta$ , PAMP (LPS) veya hasara bağlı moleküler kalıplara (DAMP'ler, örn: HMGB1, ATP) yanıt olarak üretilir. Pro-IL-1 $\beta$  biyolojik olarak inaktif formdadır ve proteolitik olarak yarılması ve hücre içi aktive edilmesi gerekir.<sup>(144)</sup> IL-1 dönüştürücü enzim olarak tanınan kaspaz-1 (inflamazom), pro-IL-1 $\beta$  'yi aktif IL-1 $\beta$  'ye ayırır.<sup>(143)</sup>

Genellikle enflamatuar bölgedeki IL-1 $\beta$ , artmış lokal kan akışı, ve nötrofil infiltrasyonunu açıklar.<sup>(143)</sup> Prostaglandin E2, trombosit aktive edici faktör ve azot oksidin sentezlerinden sorumlu enzimleri aktive eder ve bu mediyatörlerin sentezlerinin artırır bu mediyatörler, iltihaplanma ile ilişkili olan ve enfeksiyon bölgesine kan akışını ve hasarı kolaylaştıran vasküler değişikliklerden sorumludur<sup>(138)</sup>. Diapedez ve akut faz yanıtını güçlendirir.<sup>(141)</sup> IL-1 $\beta$  ayrıca, hücreler arası adhezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve E-selektin gibi membrana bağlı adhezyon moleküllerinin endotelial hücreler üzerinde ekspresyonunu artırır. Diğer hücrelerden (örn. Keratinositler) CXCL8 (IL-8) salgılanmasını uyarır; bu ve benzer kemokinler, nötrofillerin etkilenen dokuya gitmesini, damara yapışmasını ve sızmasını yönlendirir.<sup>(138)</sup> IL-1 $\beta$ , hücre dışı matrisin bozulmasına katkıda bulunan ve daha sonra kemik rezorpsiyonuna ve doku tahribatına yol açan kollajenolitik enzimlerin, matris metaloproteinazların (MMP'ler) ekspresyonunu artırır.<sup>(15)</sup> IL-1 $\beta$  RANKL salınımını indükler böylece osteoklastogenezi uyarır.<sup>(145)</sup> IL-1 $\beta$ , osteoblastlar, osteoklastlar, nötrofiller ve sementoblastlar dahil olmak üzere periodontal inflamasyonda yer alan çeşitli hücre tiplerinde MMP-9 ekspresyonunu düzenler.<sup>(146)</sup>

#### **2.4.10. Kemik Yıkımı**

İnterlökin-1 $\beta$ 'nin kemik rezorpsiyonu uyardığı mekanizma osteoblastlarda RANKL ekspresyonunun artmasını, osteoklastogenezin ve kemik rezorpsiyonunun dolaylı olarak uyarılmasını içerir.<sup>(147)</sup>

Nükleer faktör kappa-B ligandının (RANKL) reseptör aktivatörü ve osteoprotegerin (OPG) sistemi, osteoklastogenezi düzenler.<sup>(143)</sup> RANKL, membrana bağlı TNF ligand süper ailesinin bir üyesidir ve osteoblastlar, kemik iliği stromal hücreleri, aktive T hücreleri, periodontal ligament fibroblastları, sementoblastlar ve endotelial hücreler

üzerinde tespit edilir.<sup>(148)</sup> Hücre zarına bağlı olan RANKL ligandının çözülebilir formunda bulunmaktadır.<sup>(144)</sup> RANKL, osteoklast prekürsör hücreleri üzerinden salınan ve osteoklastın aktivasyonuna neden olan NF- $\kappa$ B (RANK) reseptör aktivatörüne bağlanır.<sup>(149)</sup> RANKL'in RANK'a bağlanması osteoklastların proliferasyonunu, farklılaşmasını ve aktivasyonunu modüle eden NFATc1, c-Fos ve NF-relatedB ile ilgili genlerin transkripsiyonunu aktive eder ve kemik yıkımı ile sonuçlanır.<sup>(150, 151)</sup> RANKL ve RANK arasındaki etkileşim, RANKL'a bağlanabilen çözünür tuzak reseptör osteoprotegerin (OPG) tarafından inhibe edilebilir.<sup>(144)</sup> OPG, RANK gibi tümör nekroz faktörü reseptör süper ailesinin bir üyesidir. Artan RANKL ve azalan OPG, periodontitisin bir özelliğidir.<sup>(148)</sup>

Periodontitisin patogenezi içinde birçok karmaşık mekanizmayı ve çok sayıda farklı molekülü ve bu molekülün birbirleri arasında kurdukları iletişimi içeren kompleks bir yapıdadır. Bu karmaşık yapının daha iyi anlaşılabilmesi için, bu mekanizmalar ve bu mekanizmalardaki anahtar moleküller üzerine çok fazla sayıda araştırma yapılmıştır. Her geçen gün bulunan yeni moleküller ve yeni mekanizmalar bize periodontitisin işleyişi ile ilgili daha fazla bilgi vermesine rağmen hala doldurulması gereken alanlar bulunmaktadır. Ayrıca bu boşlukların doldurulması, bize periodontitisin teşhisi, tedavisi ve önlenmesi için yeni sayfalar açabileceği şüphesizdir. Mevcut çalışmamız nispeten yeni bir antimikrobiyal peptid olan BPI'nin periodontal hastalıklarla ilişkili olup olmadığı, eğer ilişki var ise bu ilişkinin daha iyi anlaşılması, yapılacak yeni çalışmalarda biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağı üzerinedir. Aynı zamanda yıllardır periodontitiste DOS'ta miktarı arttığı bilinen ve periodontolojide kullanılan en güvenilir markırlardan olan IL-1 $\beta$  çalışmamıza karşılaştırma amaçlı dahil edilmiştir. DOS'ta IL-1 $\beta$  ile ilgili çalışmalar mevcut olmasına rağmen BPI ile yapılan çalışma bildiğimiz kadarıyla bulunmamaktadır. Bu çalışmanın null hipotezi periodontal hastalığa sahip bireylerde ve sağlıklı bireylerdeki DOS BPI seviyelerinin benzer olacağı yönündedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza, Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvurmuş ve periodontitis tanısı konulmuş 50 hasta ve periodontal açıdan sağlıklı rutin kontrole gelen 50 hasta dahil edilmiştir. Çalışmaya katılmayı kabul eden kişilere, yapılan çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında gerekli bilgiler verildikten sonra bilgilendirilmiş gönüllü olur formu imzalatılmıştır (Ek 1). Çalışmamız, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 26.12.2018 tarih ve 901 numaralı kararı ile etik açıdan onaylanmıştır (Ek 2). Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDH-2019-4850 proje numarası ile desteklenmiştir.

#### 3.1 Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

Çalışmada periodontitis grubuna dahil edilecek bireyler aşağıdaki kriterlere uygun olarak seçilmiştir:

1. Periodontitis grubu için ağız içi muayenede dişetlerinde enflamasyon, supragingival ve subgingival diştaşı ve mikrobiyal dental plak ve cep oluşumu gözlenerek, periodontitis tanısı konulmuş olması, radyografide interdental septumda vertikal veya horizontal kemik kaybının tespit edilmesi (Periodontitis grubu),
2. Periodontal cep varlığının gözlemlenmemesi, radyografide vertikal ve horizontal kemik yıkımı olmaması, tüm ağız sondlamada kanama skorunun yüzde 10'un altında olması (Sağlıklı grup),
3. Araştırmaya katılmayı kabul ederek, gönüllü onam formunu doldurup imzalaması.

#### 3.2 Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

Aşağıdaki kriterlere sahip olan bireyler çalışmaya dahil edilmemiştir:

1. Hamile ve laktasyon döneminde olan bireyler,
2. Sigara kullanan bireyler,
3. Herhangi bir sistemik hastalığı olan bireyler,
4. Son 6 ay içerisinde periodontal tedavi görmüş bireyler,
5. Son 6 ay içerisinde antibiyotik kullanmış bireyler,

6. Periodontal cep oluşumu bulunan bölgelerde dolgu, kron gibi yıkımı arttıran lokal faktörlerin gözlemlendiği bireyler.

### 3.3 Klinik Değerlendirmeler

Çalışmamız kapsamında uygun kriterlere sahip hastalardan, hastaların periodontal durumunu saptamak amacıyla yapılan klinik incelemede, ağız içinde mevcut olan dişlerin tamamından, Plak İndeksi (Pİ)<sup>(152)</sup>, Gingival İndeks (Gİ)<sup>(153)</sup>, Sondlanabilir Cep Derinliği (SCD), Klinik Ataşman Seviyesi (KAS), Sondlamada Kanama (SK)<sup>(154)</sup> parametrelerine bakılmıştır. Ölçümler aynı klinisyen tarafından (KK), Williams (Hu Friedy, Chicago, IL, USA) periodontal sondu kullanılarak ve her bir dişin 6 yüzeyinden (meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midpalatinal, distopalatinal) olmak üzere yapılmıştır.



Şekil 3.1. Williams Tipi Periodontal Sond (Hu Friedy, Chicago, IL, USA)

#### 3.3.1 Plak İndeksi (Pİ)

Ağız içindeki mevcut plak miktarının değerlendirilmesi amacıyla Silness-Löe Pİ skorları kullanıldı.<sup>(152)</sup> Bu işlem, ilgili dişler pamuk rulolar yardımıyla izole edilip, hava yolu ile kurutulmasını takiben gerçekleştirilmiş olup dişlerin bukkal, lingual, mezial ve distal olmak üzere 4 yüzeyinin skorları tutuldu. Skorların aritmetik ortalaması alınarak 0-3 arasındaki indeks değerleri verildi.

Silness-Löe plak indeks skorları:

0. Diş yüzeyinde herhangi bir bakteriyel plak yok

1. Serbest dişeti kenarına ve dişin komşu bölgesine yapışan bir plak birikimi mevcuttur. Plak ancak bir çözelti solüsyonu ya da sond kullanılarak gözlenebilir.
2. Dişeti marjinde ya da gingival cepte gözle görülebilen orta düzeyde plak birikimi mevcuttur.
3. Dişeti cebi içinde ve/veya diş ve dişeti kenarı üzerinde yoğun miktarda plak birikimi mevcuttur.

### **3.3.2 Gingival İndeks (Gİ)**

Dişetlerindeki mevcut inflamasyon düzeyinin klinik olarak belirlenmesi amacıyla Loe-Silness Gİ skorları kullanıldı.<sup>(153)</sup> Williams tipi bir periodontal sond dişlerin uzun aksına paralel olacak şekilde, dişeti kenarında gezdirilerek 0-3 arasında indeks değerleri verildi.

Loe-Silness gingival indeks skorları:

0. Sağlıklı dişeti.
1. Dişetlerinde hafif düzeyde inflamasyon, renk değişikliği ve ödem mevcuttur. Sondlamada kanama görülmez.
2. Dişetlerinde orta düzeyde inflamasyon mevcuttur, dişeti parlak, kızarıklık ve ödemlidir. Sondlamada kanama görülür.
3. Dişetlerinde şiddetli düzeyde inflamasyon mevcuttur ve belirgin şekilde kızarıklık ve ödem mevcuttur. Spontan kanama eğilimi ve ülserasyonlar görülür.

### **3.3.3 Sondlanabilir Cep Derinliği (SCD)**

Sondlanabilir cep derinliği Williams tipi bir sond kullanılarak ilgili dişin 6 yüzeyinden (meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midplatinal ve distopalatinal) milimetrik olarak hesaplandı. Ölçümler sond dişin uzun aksına paralel olacak şekilde tutulup serbest dişeti kenarından cep tabanında direnç hissedilen noktaya kadar yapıldı.

### **3.3.4 Klinik Ataşman Seviyesi (KAS)**

Klinik ataşman seviyesi ile ilgili ölçümler için 6 bölgeden (meziobukkal, midbukkal, distobukkal, meziopalatinal, midplatinal, distopalatinal) Williams tipi bir sond kullanılarak kullanılarak yapıldı. Bu seviye tespit edilirken mine-sement sınırından cep tabanına olan mesafe milimetrik olarak ölçüldü.

### **3.3.5 Sondlamada Kanama (SK)**

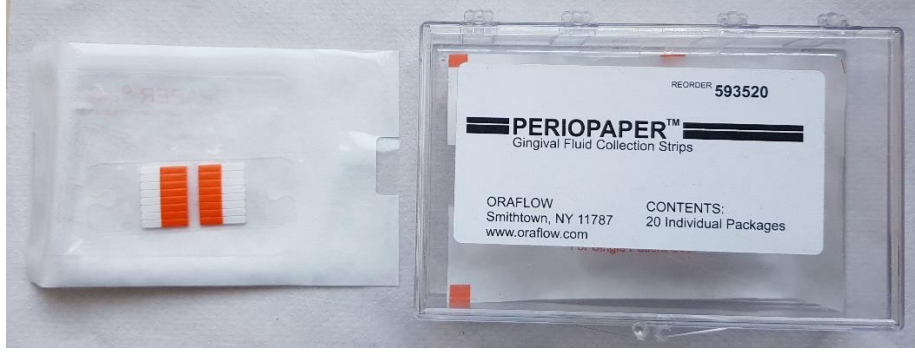
Sondlamada kanama, sondlanabilir cep derinliğinin tespitini takiben yaklaşık 10-15 saniye sonrasında kanama var (+) veya yok (-) şeklinde değerlendirildi. Tüm ağız için SK skoru ise kanama görülen diş sayısının mevcut diş sayısına bölümünün 100 ile çarpılması yoluyla tespit edilmiştir.<sup>(154)</sup>

## **3.4. Biyokimyasal Analizler**

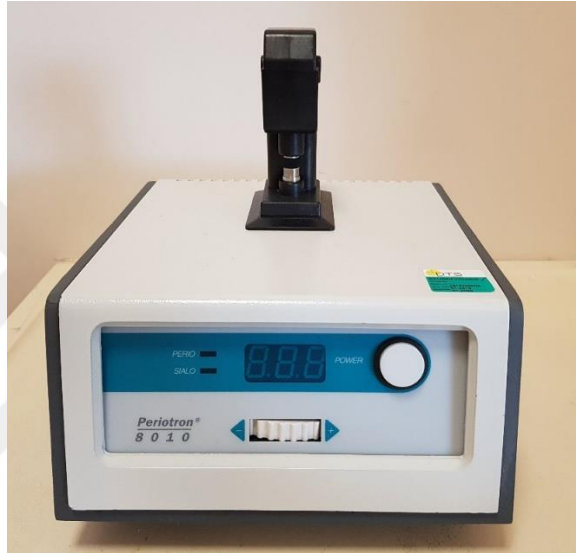
Yapılan çalışmada toplanan DOS örneklerinde; IL-1 $\beta$  ve BPI seviyeleri değerlendirildi.

### **3.4.1. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Toplanması ve Miktarlarının Ölçülmesi**

Bu çalışmada periodontal muayene, klinik ölçümler ve radyografik değerlendirmeler yapıldıktan sonraki gün hastalar, DOS örneği alınması ve rutin periodontal tedavileri için kliniğe davet edilmişlerdir. Periodontitis grubundaki örnekler cep derinliği  $\geq 5$  mm olan dişlerden elde edildi. Sağlıklı grupta ise sondlamada kanama gözlenmeyen dişlerden alınmıştır. Örnek alımı ilgili bölgeler pamuk rulolar yardımıyla izole edildikten sonra diş üzerinde bulunan supragingival plak travma oluşturmadan nazik bir şekilde steril bir gazlı bez kullanılarak uzaklaştırıldı. Bölge hava spreyi ile hafifçe kurutuldu. Standardize edilmiş kağıt şeritler (PerioPaper GCF Collection Strips, Oraflow Inc., New York, USA) cebin tabanına doğru minimum basınç hissedilene kadar ilerletildi. 30 saniyelik bir bekleme işleminin ardından kağıt şeritler kalibrasyonu yapılmış Periotron® 8010 (Oraflow Inc., New York, USA) cihazına yerleştirilerek periotron değerleri kaydedildi. Kan ve tükürük ile kontamine olmuş DOS örnekleri incelemeye alınmadı ve ölçümler yinelendi. Kağıt şeritler 1.5 ml'lik eppendorf tüplere yerleştirilerek analizin yapılacağı güne kadar uygun koşullarda muhafaza edildi (-20°C').

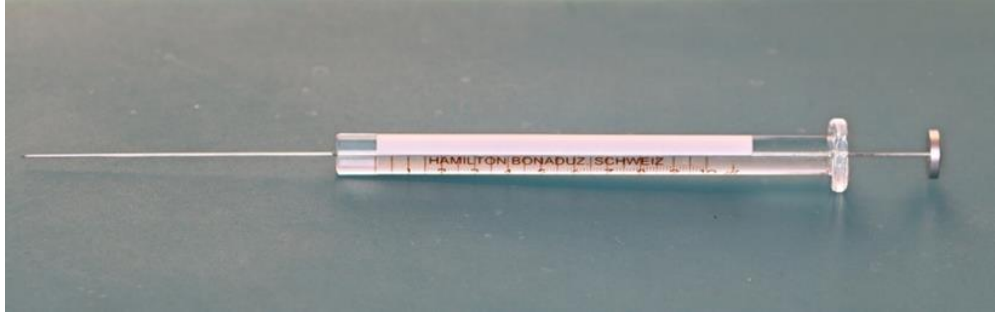


Şekil 3.2. Standart kağıt stripler



Şekil 3.3. Periotron 8010 Cihazı

Periotron skorlarına karşılık gelen  $\mu\text{l}$  değerlerinin belirlenmesi Hamilton #701 (Hamilton Microliter Syringe, Reno, Nevada, USA) (Şekil 3.3) şırıngası kullanılarak standart eğrisi oluşturularak yapıldı. Bu amaçla 0-0,5  $\mu\text{l}$  aralığında 20 nl artan değerlerle fizyolojik serum emdirilmiş kağıt striplerin periotron cihazı değerleri kaydedildi. Ölçüm her bir değer için 3 defa tekrarlandı ve her değerın ortalaması alınarak kaydedildi.<sup>(155)</sup> Periotron skorlarının mikrolitreye çevirilmiş tablosu EK 4'te sunulmuştur.



**Şekil 3.4.** Hamilton #701 Şıringası

### **3.4.2. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Hazırlanması**

Analizlerin gününde donmuş kağıt seritleri içeren eppendorf tüpleri oda sıcaklığında 30 dakika süresince bekletildi. Eppendorf tüpleri içerisine 200 µl fosfat tampon (phosphate buffered saline; PBS pH:7.4) ilave edilip 1 saat kadar bekletildi. Kağıt şeritlerdeki DOS'un fosfat tampona geçişinin sağlanması için Eppendorf santrifüj cihazında (MIKRO 20, Hettich® zentrifugen, Tuttlingen, Germany) eppendorf tüpleri 1.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Temiz polipropilen bir uca sahip pipetör vasıtasıyla eppendorf tüpleri içerisindeki buffer alındı.

### **3.4.3. Dişeti Oluğu Sıvısı Örneklerinin Biyokimyasal Analizi**

DOS örneklerinin IL-1 $\beta$  ve BPI seviyeleri ölçümü FARMASİNA Tıbbi ve Kimyevi Ürünler San. Tic. Ltd. Şti.nin laboratuvarları tarafından IL-1 $\beta$  (Human IL-1 $\beta$  ELISA Kit, İnvitrogen by Thermo Fisher Scientific, Campus Vienna Biocenter 2, 1030 Vienna, Austria) ve BPI (Human Bactericidal Permeability-Increasing Protein (BPI) ELISA Kit Abbexa Ltd ELİSA Kit 96T, Abbexa Ltd, Cambridge, United Kingdom) için ELISA kitleri kullanılarak gerçekleştirildi.

#### **3.4.3.1. IL-1 $\beta$ Total Miktarlarının Belirlenmesi**

Alınan DOS örneklerinde IL-1 $\beta$  miktarının belirlenmesi için kullanılan kitte üretici firmanın belirttiği şekilde analiz prosedürleri uygulandı. Analiz öncesi kitler oda sıcaklığında 30 dakika kadar bekletildi.

Mikrokuyu şeritleri iki kez Yıkama Tamponu ile yıkandı ve gerekli mikrokuyucuk sayısı belirlendi.

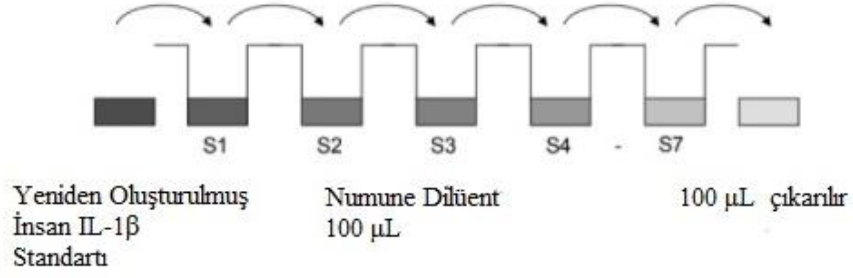


Şekil 3.5. Biotek ELx-5 Microplate Yıkayıcı

Mikrokuyulu Plakada Standart Seyreltme: Tüm standart kuyucuklara çift olarak 100  $\mu$ L örnek seyreltici eklendi. İlk kuyulara standart hazırlanmış 100  $\mu$ L pipetlendi ve kuyudan kuyucuğa 100  $\mu$ L aktararak standart dilüsyonlar oluşturuldu. Son kuyulardan 100  $\mu$ L atıldı.

Tablo 3.1. Mikrokuyucuklardaki boşulların standartların ve örneklerin düzenlenmesi.

	1	2	3	4
A	Standart 1 250,0 pg/mL	Standart 1 250,0 pg/mL	Örnek 1	Örnek 1
B	Standart 2 125,0 pg/mL	Standart 1 125,0 pg/mL	Örnek 2	Örnek 2
C	Standart 1 62,5 pg/mL	Standart 1 62,5 pg/mL	Örnek 3	Örnek 3
D	Standart 1 31,3 pg/mL	Standart 1 31,3 pg/mL	Örnek 4	Örnek 4
E	Standart 1 15,6 pg/mL	Standart 1 15,6 pg/mL	Örnek 5	Örnek 5
F	Standart 1 7,8 pg/mL	Standart 1 7,8 pg/mL	Örnek 6	Örnek 6
G	Standart 1 3,9 pg/mL	Standart 1 3,9 pg/mL	Örnek 7	Örnek 7
H	Boş	Boş	Örnek 8	Örnek 8



**Şekil 3.5.** Standart tüplerin seyreltilmesi

Boş kuyulara çift olarak 100 µL Örnek Seyreltici ekledi. Numune kuyucuklarına 50 µL numune seyreltici eklendi. Belirtilen örnek kuyularına iki kopya halinde 50 µL numune eklendi.

Biotin-Konjugat hazırlandı ve tüm kuyucuklara 50 µL olacak şekilde eklendi. Mikrokuyucuklu plaka alüminyum folyo ile kapatıldı ve 2 saat oda sıcaklığında (18° ila 25° C) inkübe edildi.



**Şekil 3.6.** Örneklerin çalkalayıcı cihazda inkübe edilmeleri (DLAB Scientific Inc.)

Streptavidin-HRP solüsyonu hazırlandı. Mikrokuyucuklar bolşaltıldı ve yıkama tamponu ile 3 kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µL seyreltilmiş Streptavidin-HRP eklendi. Mikrokuyucuklu plaka alüminyum folyo ile kapatıldı ve oda sıcaklığında (18° ila 25°C) 1 saat inkübe edildi.

Mikrokuyucuklar boşaltıldı ve yıkama tamponu ile 3 kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µL TMB (tetrametilbenzidin) substrat solüsyonu eklendi. Mikrokuyucuklar oda sıcaklığında (18 ° ila 25 ° C) yaklaşık 10 dakika inkübe edildi.

Bu işlemleri takiben kuyucuklara 100 µl durdurucu solüsyon ilave edildi ve rengin sarıya dönüştüğü gözlemlendi ve 450 nm dalga boyunda okuma işlemlerini gerçekleştiren ELISA optik okuyucusu yardımıyla (ELx-800, µQuant, BioTek Instruments, Inc, Winooski, Vermont, ABD) kuyucukların okuma işlemleri gerçekleştirilmiştir.



**Şekil 3.7.** Durdurucu solüsyon ilave edilmesi ve rengin sarıya dönüşmesi



**Şekil 3.8.** Biotek ELx-800 Microplate Okuyucu.

### 3.4.3.2. BPI Miktarının Belirlenmesi

Alınan DOS örneklerinde BPI miktarının belirlenmesi için kullanılan kitte üretici firmanın belirttiği şekilde analiz prosedürleri uygulandı. Analiz öncesi kitler oda sıcaklığında 30 dakika kadar bekletildi.

Standart kuyucuklara 100 µl hazırlanmış standart solüsyon eklendi. Kontrol (sıfır) kuyucuğuna 100 µl Örnek/Standart seyreltici tampon eklendi. Test örneği kuyucuklarına 100 µl uygun şekilde seyreltilmiş örnek eklendi. Plaka kapatıldı ve 37° C'de 90 dakika inkübe edildi. Ardından kapak çıkarıldı ve içindeki sıvı atıldı, yıkama yapılmadı.

Her kuyucuğa 100 µl hazırlanmış Biotin konjuge antikor çalışma solüsyonu eklendi (standart, test numunesi ve sıfır kuyucuk). Çözeltinin yan duvarlara dokunulmadan kuyucuklara eklenmesine dikkat edildi. Plaka aliminyum folyo ile kapatıldı ve 37 ° C'de 60 dakika inkübe edildi.

Kapak çıkartıldı ve solüsyon atıldı. Plaka 3 kez yıkama tamponu ile yıkandı. Her kuyuya 100 µl HRP çalışma solüsyonu eklendi, plaka aliminyum folyo ile kapatıldı ve 37° C'de 30 dakika inkübe edildi.

Kapak çıkartıldı, sıvı atıldı ve plaka yıkama tamponuyla 5 kez yıkandı. Her kuyuya 90 µl TMB substratı eklendi. Plaka aliminyum folyo ile kapatıldı ve 37° C'de 10-20 dakika inkübe edildi. Işığa maruz kalmasından kaçınıldı.

Enzim reaksiyonunu durdurmak için her kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu eklendi. Durdurma Solüsyonunun, enzimi tamamen etkisiz hale getirmesi için hızlı ve homojen bir şekilde karıştırıldı. Plakanın dibinde parmak izi veya su olmadığından ve kuyulardaki sıvının kabarcıksız olduğundan emin olunduktan hemen sonra 450 nm'de ölçüm yapıldı.

### 3.5 İstatistiksel Analizler

Analizler SPSS 23.0 programı ile yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler frekans, yüzde, ortalama, standart sapma ve medyan, minimum, maksimum değerleri ile sunuldu. Normallik varsayımı gruptaki örnekleme sayısı 50'den küçük olduğunda Shapiro Wilks, büyük olduğunda Kolmogorov-Smirnov testi ve bunlarla beraber q-q plot

grafikleri ile değerlendirildi. Grupların sayısal değerleri arasındaki farkların analizinde normal dağılım varsayımı sağlandığında Bağımsız Örneklem t Test, sağlanmadığı durumda Mann-Whitney U testi kullanıldı. Ordinal ve/veya sayısal veriler arasındaki ilişkiler parametrik Pearson veya non-parametrik Spearman Testi ile belirlendi. 0,05'den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### **Güç Analizi (Power Analizi)**

Chen ve arkadaşlarının yayınından elde edilen, Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAHA) hastalarıyla kontrol grubunun BPI (Bakterisidal Geçirgenlik Arttırıcı Protein) ölçümlerindeki değişime ait yapılan bağımsız örneklem t testinin sonuçları kullanılarak hesaplanan güç analizinde; etki büyüklüğü ( $d=5,95$ ) olarak hesaplandığında, 0,05 hata payı, 0,95 güç ile çalışmaya dahil edilmesi gereken minimum örneklem sayısı toplam  $n=6$  olarak bulunmuştur.<sup>(156)</sup>  $n=90$  olarak alındığında G\*Power 3.1 programı ile çalışmanın gücü %99,99 olarak hesaplanmıştır.

## BULGULAR

Çalışmaya 50 periodontal olarak sağlıklı, 50 periodontal hastalığa sahip birey olmak üzere toplam 100 birey dahil edilmiştir. Bireylerin başlangıçtaki klinik parametreleri (PI, GI, SCD, KAS, SK) kaydedilmiştir. Bireylerden DOS örnekleri toplanmıştır. Toplanan örneklerdeki IL-1 $\beta$  ve BPI miktarları ELİSA yöntemiyle belirlenmiştir. Verilerin istatistiksel olarak karşılaştırılması aşağıdadır.

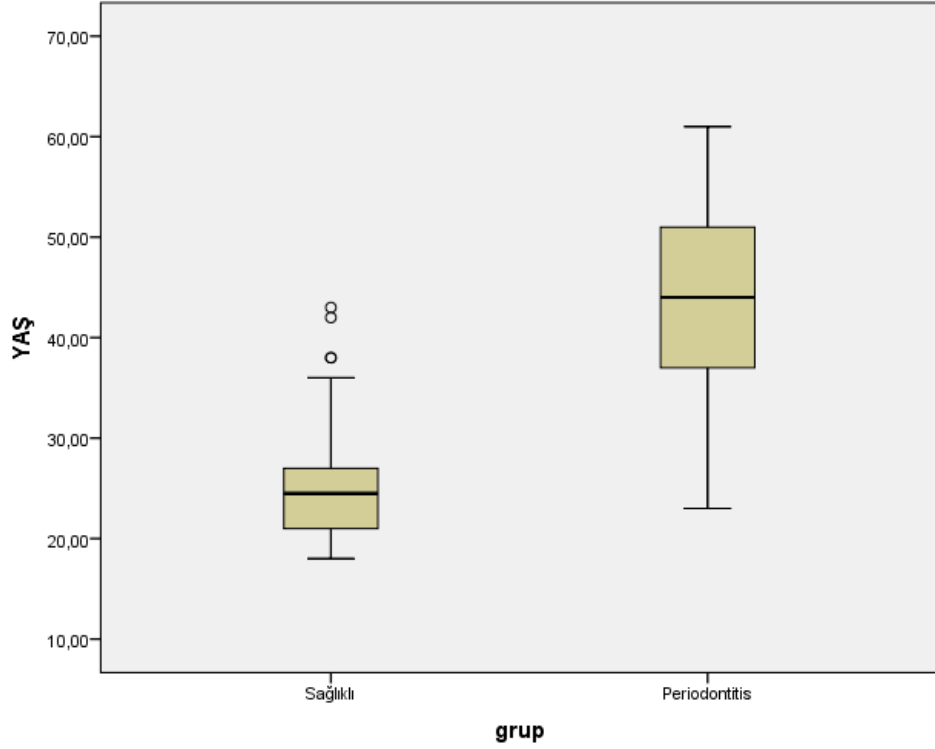
### 4.1. Demografik Bulgular

Çalışmaya katılan bireylerin yaşları 18 ile 61 arasında değişmektedir ve yaş ortalamaları  $34,59 \pm 11,96$ 'dır. Sağlıklı grubundaki bireylerin yaşları 18 ile 42 arasında değişmekte olup yaş ortalamaları  $25,5 \pm 5,96$  iken periodontitis grubundaki bireylerin yaşları 23 ile 61 arasında değişirken ortalaması ise  $43,68 \pm 9,23$ 'tür. Periodontitis grubuyla sağlıklı grubu arasında yaş ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ( $p < 0,001$ ).

Çalışmaya katılan bireylerin yüzde 38'ini erkekler, yüzde 62'sini ise kadınlar oluşturmaktadır. Periodontitis grubundaki bireylerin yüzde 44'ü erkek (22 birey), yüzde 56'sı (28 birey) kadın iken, sağlıklı grubunda erkekler yüzde 32 (16 birey), kadınlar yüzde 68 (34 birey) oranındadır. Gruplar arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p = 0,216$ ).

**Tablo 4.1.** Gruplara Ait Demografik Veriler

		Sağlıklı grup	Periodontitis grubu	P değeri
Yaş		$25,5 \pm 5,96$	$43,68 \pm 9,23$	0,001
Cinsiyet	Kadın	34	28	0,216
	Erkek	16	22	



Şekil 4.1. Yaş Ortalamalarının Gruplara Göre Dağılımı

#### 4.2. Gruplar Arası Klinik Parametrelerin Karşılaştırılması

Sağlıklı bireyler ve periodontal hastalığa sahip bireylerin klinik parametreleri incelenmiştir. Sağlıklı grubun plak indeks ortalaması  $0,45 \pm 0,14$  iken periodontitis grubunda plak indeks ortalaması  $1,65 \pm 0,20$ 'dir. Sağlıklı grubun GI değerlerinin ortalaması  $0,51 \pm 0,18$  iken periodontitis grubunda bu değer  $1,69 \pm 0,18$  olarak gözlenmektedir. Sağlıklı grupta SCD ortalama değeri  $1,97 \pm 0,21$ , periodontitis grubunda  $3,71 \pm 0,48$  olarak gözlenmektedir. Sağlıklı grupta KAS ortalaması  $1,98 \pm 0,21$ , periodontitis grubunda ise  $3,80 \pm 0,52$ 'dir. SK değerlerinin ortalaması sağlıklı grupta  $7,52 \pm 1,28$  iken periodontitis grubunda  $74,98 \pm 9,70$  olarak gözlemlenmektedir. Klinik parametrelerin ortalama değerleri ve bu gruplar arası karşılaştırmalar Tablo 4.2'de verilmiştir. Gruplar arasındaki karşılaştırmaların sonucunda bütün klinik parametreler arasında, periodontitis grubundaki değerlerin sağlıklı grubundaki değerlere göre daha yüksek olduğu belirlenmiş ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu gözlemlenmiştir ( $p < 0,01$ ).

**Tablo 4.2.** Klinik Parametrelerin Gruplar Arasındaki Karşılaştırılması

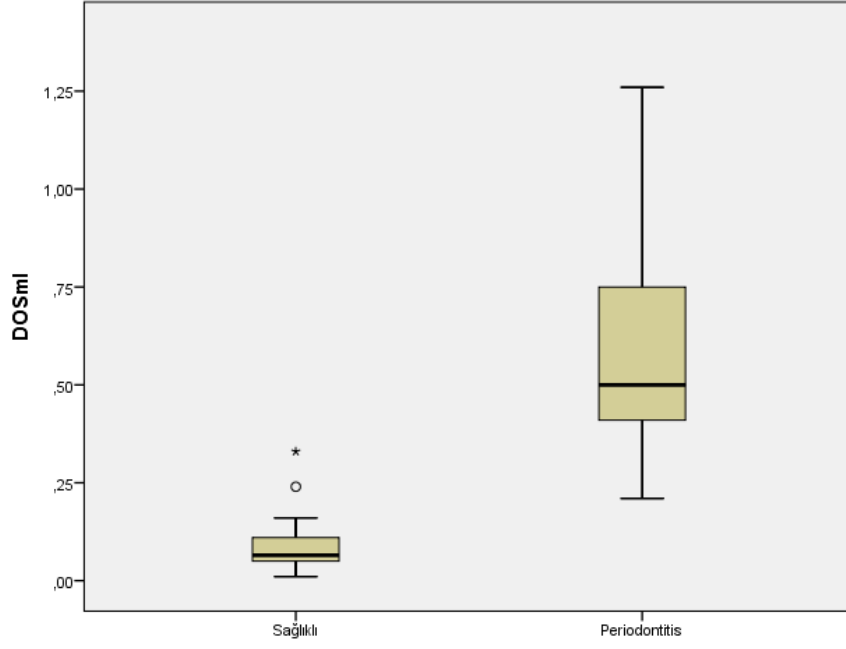
	Sağlıklı Grup (Ort. ±SS)	Periodontitis Grubu (Ort. ±SS)	Sağlıklı ve Periodontitis Grubu Değerlerinin Karşılaştırılması (p değeri)
PI	0,45±0,14	1,65±0,20	p:0,001*
GI	0,51±0,18	1,69±0,18	p:0,001*
SCD	1,97±0,21	3,71±0,48	p:0,001*
KAS	1,98±0,21	3,80±0,52	p:0,001*
SK	7,52±1,28	74,98±9,70	p:0,001*

### 4.3. Gruplar Arası DOS Miktarlarının Karşılaştırılması

Sağlıklı ve periodontitis gruplarına ait DOS hacmi karşılaştırmasında, DOS hacminin periodontitis grubunda sağlıklı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,001$ ) (Tablo 4.3).

**Tablo 4.3.** DOS Hacminin Gruplar Arasındaki Karşılaştırılması

Parametreler	Sağlıklı Grup (Ort. ±SS)	Periodontitis Grubu (Ort. ±SS)	Sağlıklı ve Periodontitis Grubu Değerlerinin Karşılaştırılması (p değeri)
DOS Hacmi ( $\mu$ l)	0,08±0,05	0,55±0,24	p:0,001



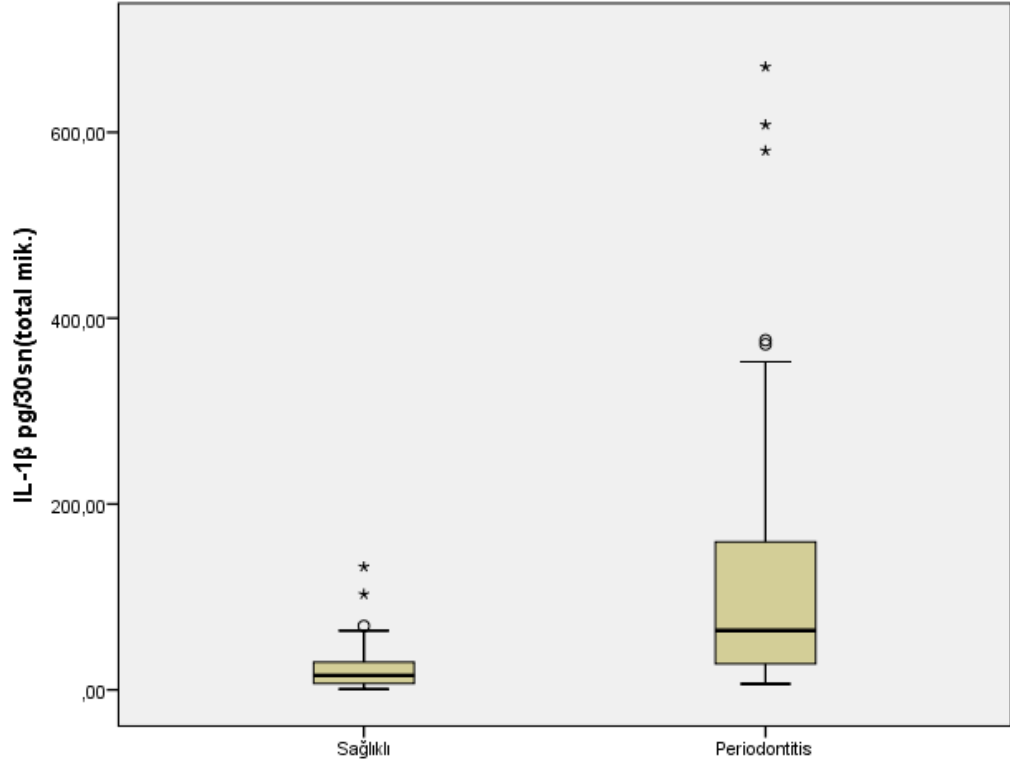
Şekil 4.2. DOS Hacminin Gruplara Göre Dağılımı

#### 4.4. Gruplar Arası DOS IL-1 $\beta$ ve BPI Seviyelerinin Karşılaştırılması

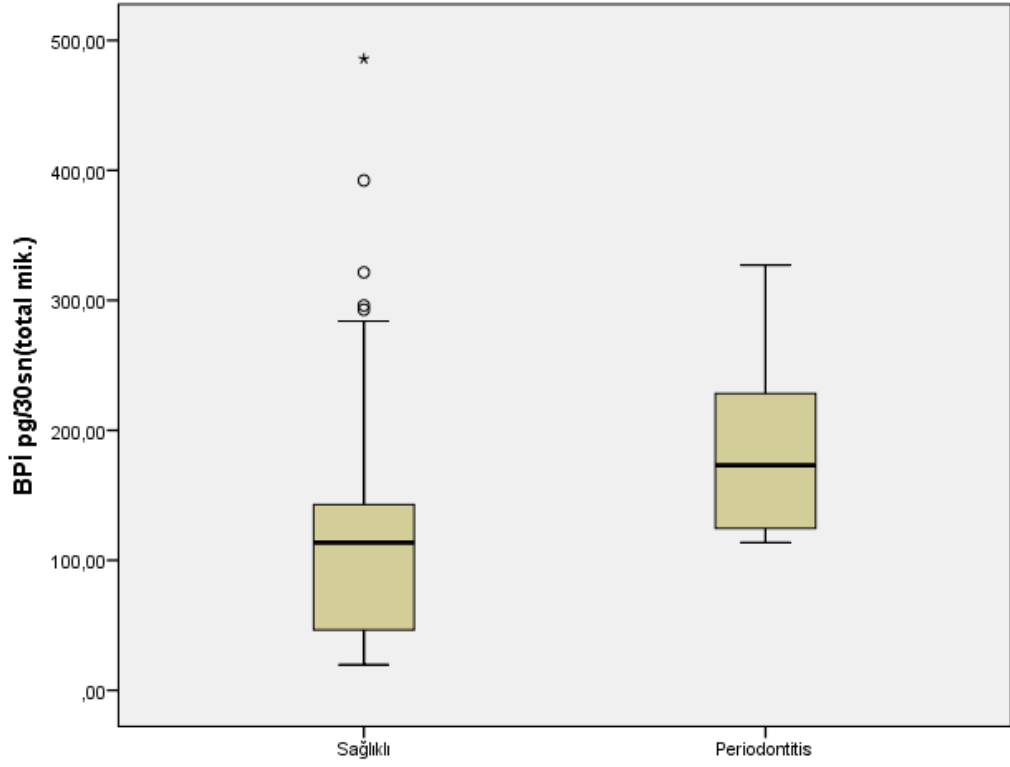
DOS IL-1 $\beta$  ve BPI düzeyleri sağlıklı ve periodontitis grupları arasında karşılaştırılmıştır. DOS IL-1 $\beta$  örneklerinin ortalaması sağlıklı grupta  $22,87 \pm 25,24$  iken periodontitis grubunda  $129,24 \pm 162,22$ 'dir. DOS BPI miktarlarının ortalaması ise sağlıklı grupta  $121,30 \pm 101,93$ , periodontitis grubunda  $180,55 \pm 57,72$  olarak gözlemlenmektedir. Yapılan karşılaştırmada hem IL-1 $\beta$  hemde BPI seviyelerinin periodontitis grubunda sağlıklı gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmektedir ( $p < 0,001$ ) (Şekil 4.4).

Tablo 4.4. DOS IL-1 $\beta$  ve BPI Miktarlarının Gruplar Arasındaki Karşılaştırılması

Parametreler	Sağlıklı Grup (Ort. $\pm$ SS)	Periodontitis Grubu (Ort. $\pm$ SS)	Sağlıklı ve Periodontitis Grubu Değerlerinin Karşılaştırılması(p değeri)
IL-1 $\beta$ pg/30sn (total mik.)	$22,87 \pm 25,24$	$129,24 \pm 162,22$	$p:0,001^*$
BPI pg/30sn (total mik.)	$121,30 \pm 101,93$	$180,55 \pm 57,72$	$p:0,001^*$



Şekil 4.3. IL-1 $\beta$  Miktarlarının Gruplara Göre Dağılımı



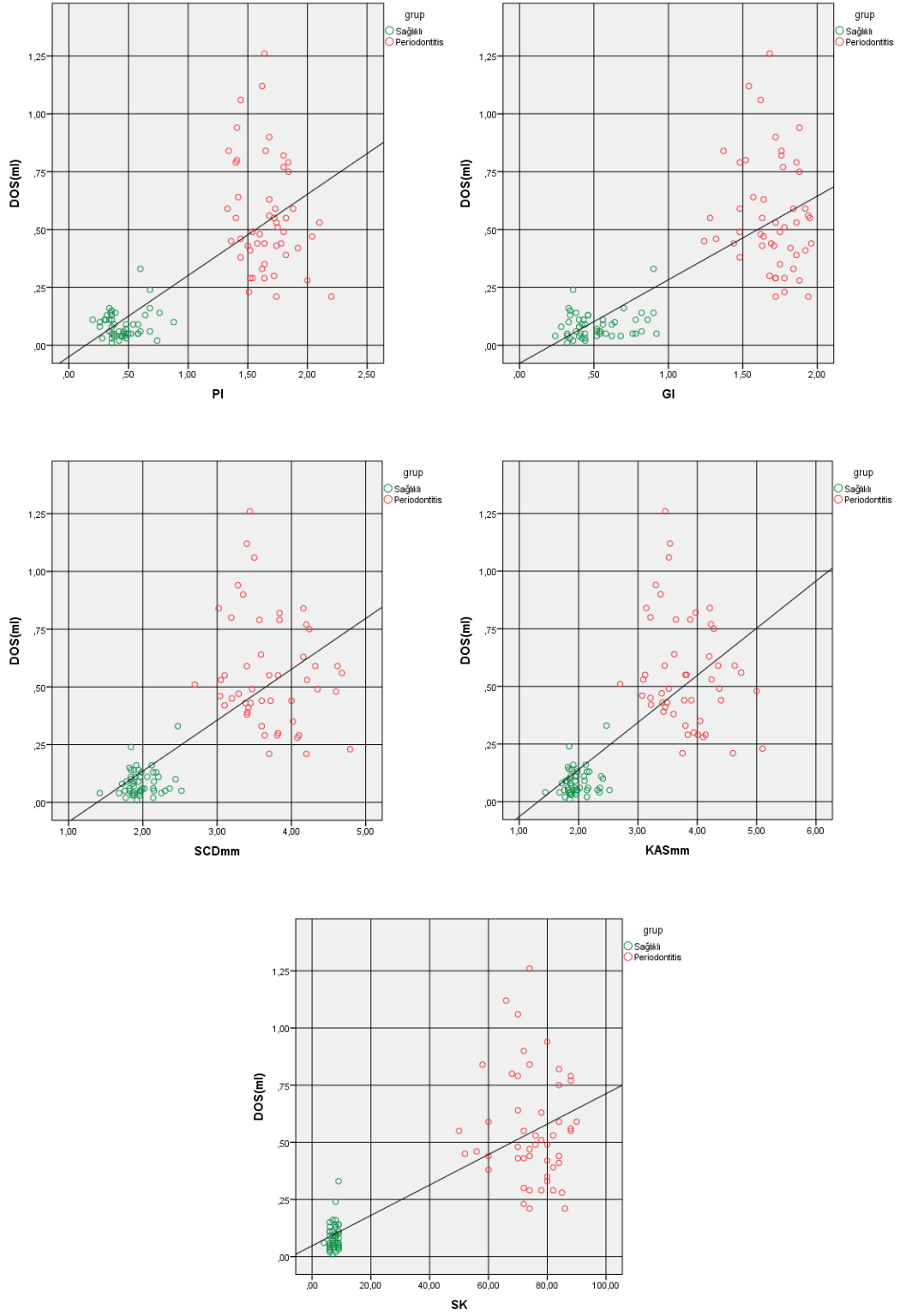
Şekil 4.4. BPI Miktarlarının Gruplara Göre Dağılımı

#### 4.5. DOS Hacmi ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler

DOS hacmi ile klinik parametreler PI ( $r=0,722$ ), GI ( $r=0,740$ ), SCD ( $r=0,742$ ), KAS ( $r=0,751$ ) ve SK ( $r=0,752$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı kuvvetli bir ilişki bulunmaktadır ( $p<0.01$ ) (Tablo 4.5).

**Tablo 4.5.** DOS Hacmi ve Klinik Parametreler Arası İlişki

Sperman's Rho		Klinik Parametreler				
		PI	GI	SCD	KAS	SK
DOS Hacmi(ml)	r	,722**	,740**	,742**	,751**	,752**
	p	,001	,001	,001	,001	,001



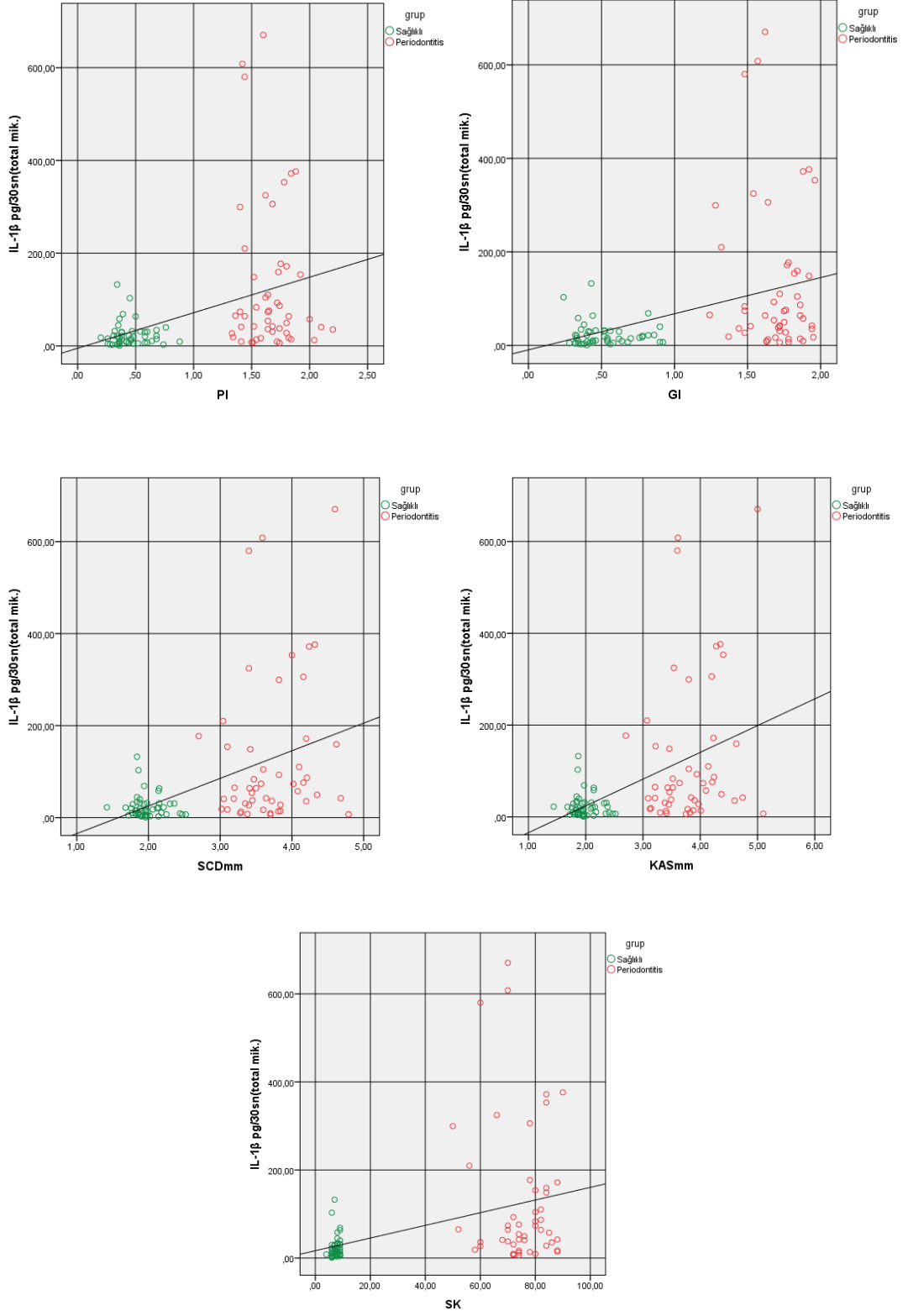
Şekil 4.5. DOS Hacmi ile Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

#### 4.6. IL-1 $\beta$ , BPI Seviyeleri ve Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler

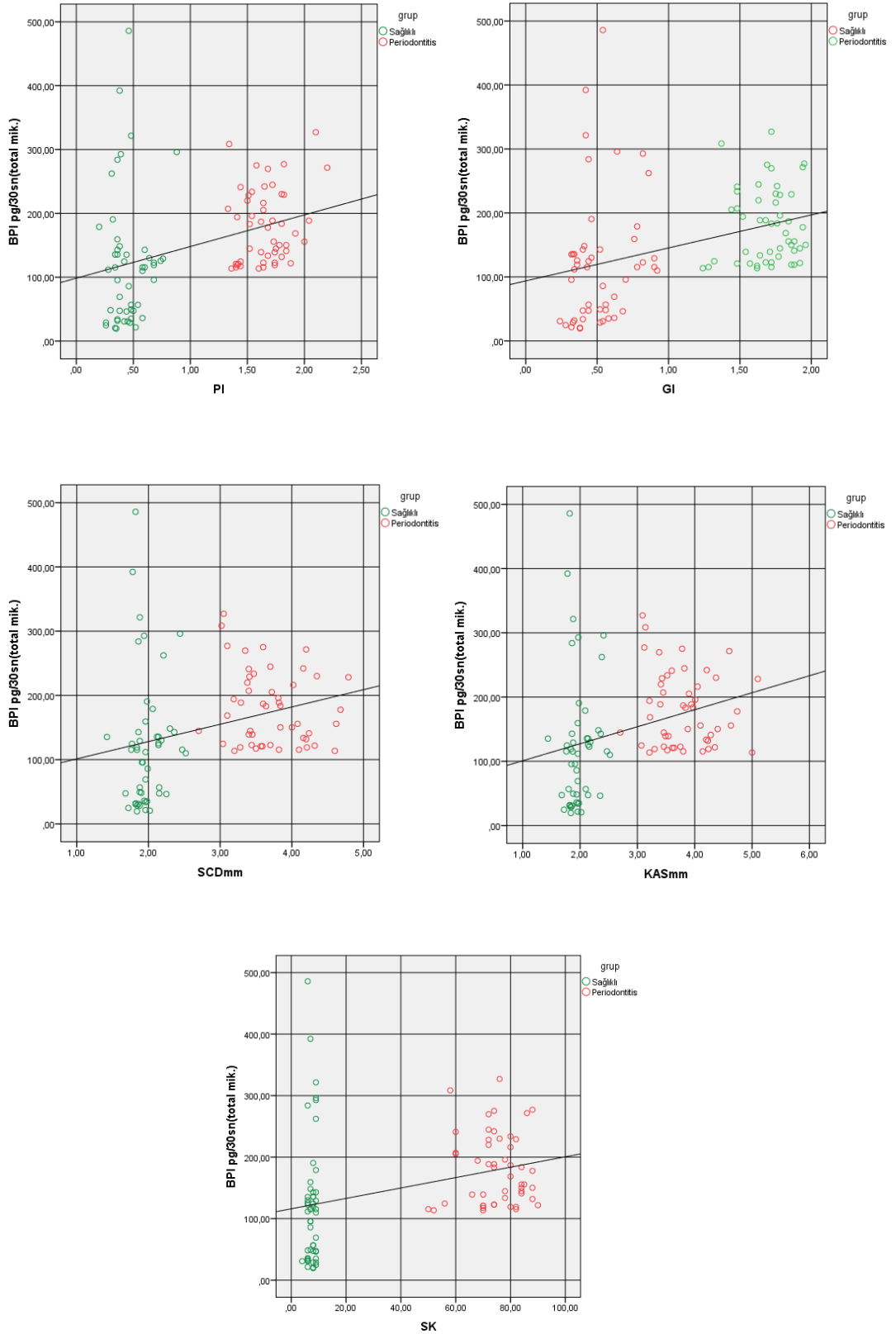
DOS örneklerinden elde edilen IL-1 $\beta$  seviyeleri ile klinik parametrelerin tamamı PI (r=0,494), GI (r=0,483), SCD (r=0,501), KAS (r=0,516), SK (r=0,516) arasında pozitif istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Aynı şekilde DOS BPI seviyeleri ile PI (r=0,433), GI (r=0,477), SCD (r=0,392), KAS (r=0,418), SK (r=0,439) arasında pozitif anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (p<0,01) (Tablo4.6).

**Tablo 4.6.** DOS IL-1 $\beta$  ve BPI Miktarları ile Klinik Parametreler Arasındaki İlişkiler

Sperman's Rho		Klinik Parametreler				
		PI	GI	SCD	KAS	SK
IL-1 $\beta$ pg/30sn (total mik.)	r	,494	,483	,501	,516	,516
	p	,001	,001	,001	,001	,001
BPI pg/30sn (total mik.)	r	,433	,477	,392	,418	,439
	p	,001	,001	,001	,001	,001



Şekil 4.6. DOS IL-1β Miktarları ile Klinik Parametreler Arasındaki İlişki



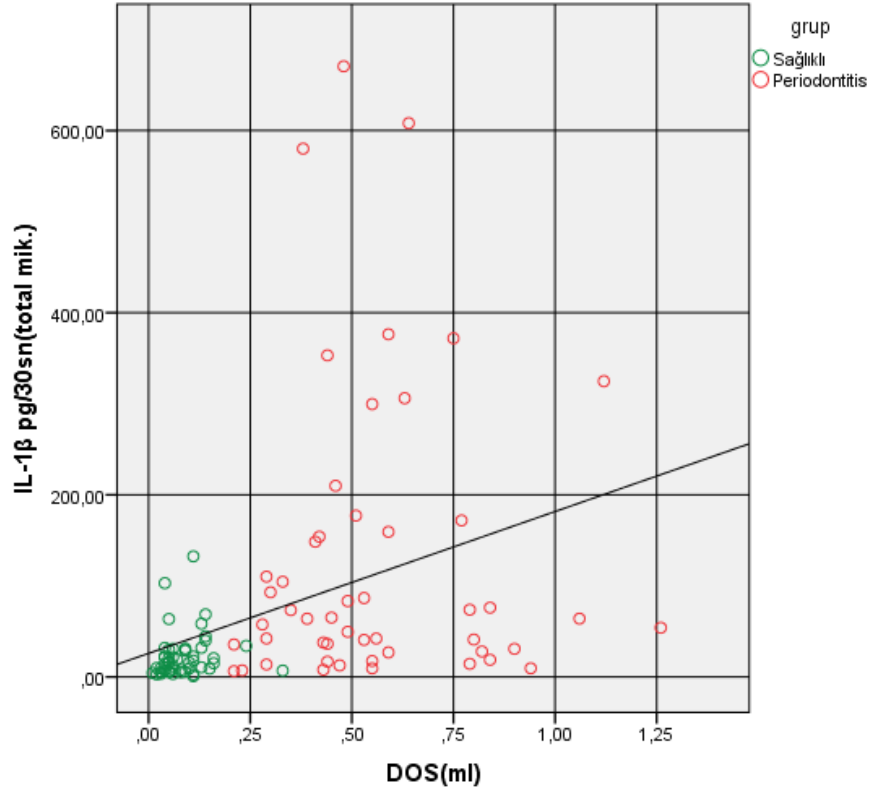
Şekil 4.7. DOS BPI Miktarları ile Klinik Parametreler Arasındaki İlişki

#### 4.7. IL-1 $\beta$ , BPI Seviyeleri ve DOS Hacmi Arasındaki İlişkiler

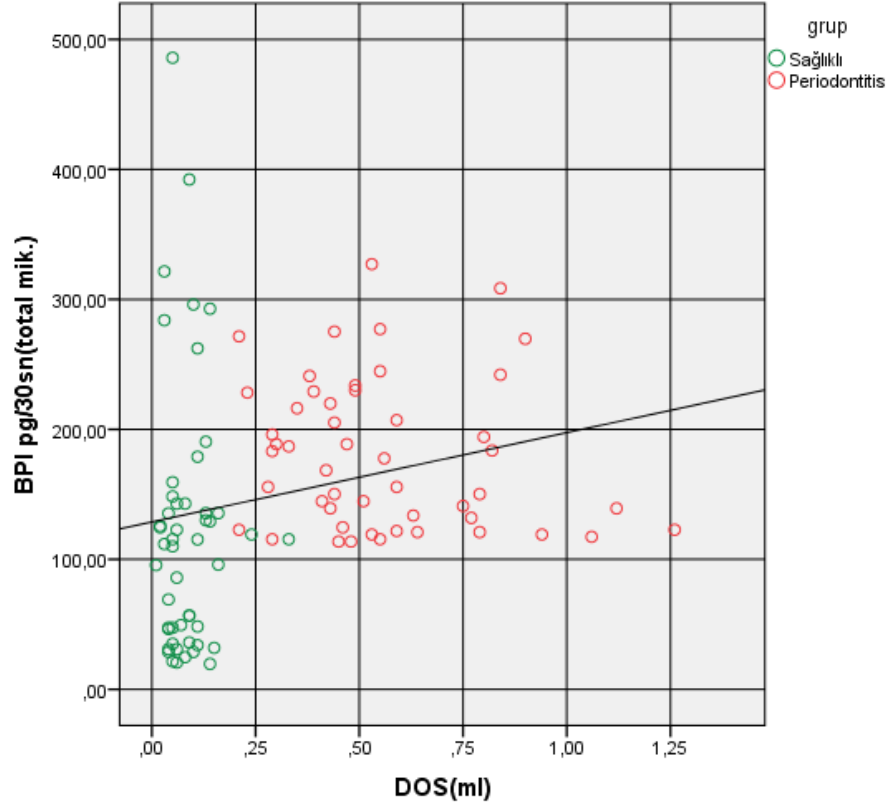
DOS IL-1 $\beta$  seviyesi ile DOS hacmi ( $r=0,554$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki saptanmıştır ( $p<0,01$ ). Aynı şekilde DOS BPI seviyesi ile DOS hacmi ( $r=0,367$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki mevcuttur ( $p<0,01$ ).

**Tablo 4.7.** DOS IL-1 $\beta$  ve BPI Miktarları ile DOS Hacmi Arasındaki İlişkiler

IL-1 $\beta$ pg/30sn (total mik.)	Sperman's Rho	
	r	DOS Hacmi
BPI pg/30sn (total mik.)	r	,554**
	p	,001
IL-1 $\beta$ pg/30sn (total mik.)	r	,367**
	p	,001



**Şekil 4.8.** DOS Hacmi ile IL-1 $\beta$  Miktarları Arasındaki İlişki



Şekil 4.9. DOS Hacmi ile BPI Miktarları Arasındaki İlişki

## TARTIŞMA

Periodontitis, disbiyotik plak biyofilmleriyle ilişkili ve diş destek dokularının aşamalı kaybı ile karakterize kronik, multifaktöriyel, inflamatuvar hastalıktır. Bakteriler, periodontal hastalıkların etiolojisinde önemli rol oynamaktadır, ancak hastalığın ilerleyişi ve gelişimini açıklamada tek başına bakteri varlığı yeterli olmamakta, konağa ait faktörlerin de bu sürece dahil olduğu günümüzde kabul edilmektedir.<sup>(23)</sup> Konak yanıtı, hastalığın progresyonunu belirlerken, plak ve diş taşı gibi yerel faktörler, genetik, çevresel faktörler, hastanın sistemik sağlığı, yaşam tarzı alışkanlıkları ve çeşitli sosyal faktörler de hastalığın ilerlemesinde rol oynar.<sup>(157)</sup>

Risk faktörleri, belirli bir hastalık ile ilgili olduğu kanıtlanmış, çevresel ya da doğuştan gelen özellikler olarak tanımlanmaktadır. Risk faktörlerinin bir bireyde bulunması, risk faktörlerine özgü hastalığa yakalanma olasılığını artırabilmekte veya mevcut hastalığın durumunu daha da ilerletebilmektedir. Çalışmamızın sonuçlarını etkilememesi açısından, periodontitis için risk faktörleri değerlendirilerek, bu risk faktörlerine sahip bireyler çalışma dışı tutulmuştur.

Yaş ve periodontitis arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Ebersole ve arkadaşları, yayınladıkları raporda, klinik parametrelerin yaşa bağlı olarak, sağlık, gingivitis veya periodontitis grupları içinde anlamlı olarak farklı olmadığını belirttiler.<sup>(158)</sup> Oral patojenlere ve kommensal bakterilere karşı antikor, klinik kategorilerin her birinde, farklı yaş gruplarında, benzer olduğunu ve periodontitis hastalarında yaş korelasyonu kaydedilmediğinin altını çizdiler.<sup>(158)</sup> Borrell, Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme araştırmasındaki (NHANES) 1999-2004 yılları arasında, 20 yaşından büyük bireyleri kapsayan çalışmadan elde edilen verileri analiz etmiştir.<sup>(159)</sup> Yapılan analiz, 20-34 yaş arası bireylerdeki periodontitis prevalansı yüzde 4,2 olarak gösterirken, 35-49 yaş arası yüzde 10,8, 50-64 yaş aralığında ise yüzde 12,5 olduğunu, yani yaş artınca periodontitis görülme sıklığının arttığını göstermiştir.<sup>(159)</sup> Çalışmamızda sağlıklı bireylerin yaş ortalaması 25,5±5,96 iken periodontitis grubundaki bireylerin yaş ortalaması 43,68±9,23'tür. Bu da periodontitis grubunun yaş ortalamasının sağlıklı bireylerdeki yaş ortalamasına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu gösterir (p<0,001). 2020 yılında yaşadığımız COVID-19 pandemisi nedeniyle kliniğe giren hasta sayısının az olması bu standartizasyonun sağlanamamasının temel nedenidir.

Cinsiyet ve periodontitis arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalarda da tıpkı yaşta olduğu gibi çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan çalışmalardan bir kısmı cinsiyetin periodontitis için bir risk faktörü olmadığını bildirirken bazı çalışmalar periodontitisin görülme sıklığının erkeklerde daha fazla olduğunu savunmaktadır.<sup>(160-163)</sup> Borrell yaptığı analizde, erkek bireylerde periodontitis görülme sıklığının yüzde 11.3, kadın bireylerdekinin ise yüzde 6.7 olduğunu belirtmiştir.<sup>(159)</sup> Eke, NHANES 2009-2012 yılları arasında yapılan çalışmadan elde edilen verileri analiz ettiğinde, erkeklerde şiddetli periodontitis (yüzde 13.3'e karşı yüzde 4.7) ve şiddetli olmayan periodontitisin (yüzde 41.6'ya karşı yüzde 32.7), kadınlara göre daha sıklıkla görüldüğünü göstermiştir.<sup>(161)</sup> Bouchard ve arkadaşları, erkeklerde kadınlara kıyasla daha yüksek oranda klinik ataşman seviyesi, alveolar kemik kaybı görüldüğünü rapor etmişlerdir.<sup>(160)</sup> Shiau ve arkadaşları, yaptıkları meta analiz sonucunda, erkeklerin, periodontitis için kadınlardan daha büyük risk altında olduğunu; ancak, hızlı ilerleyen periodontitis söz konusu olduğunda, erkeklerin kadınlara göre daha yüksek risk altında görünmediğini savunmuşlardır.<sup>(162)</sup> Diğer tarafta Khader ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada yaşları 15 ile 65 arasında değişen 603 bireydeki klinik parametreleri değerlendirdiklerinde ve cinsiyetin periodontitis ile ilişkili olmadığını buldular.<sup>(164)</sup> Aynı şekilde başka bir çalışmada Sosin ve arkadaşları, 612 birey üzerinde periodontitisin prevalansı ve risk faktörlerini değerlendirmişler ve cinsiyetin periodontitis için bir risk faktörü olmadığını sonucuna varmışlardır.<sup>(165)</sup> Çalışmamıza dahil edilen toplam 100 bireyin 38'i erkek, 62'si kadındır. Periodontitis grubunda 22 erkek birey (yüzde 44) bulunurken 28 kadın (yüzde 56) birey mevcuttur. Sağlıklı grupta da erkeklerin sayısı 16 iken kadın bireylerin sayısı 34'tür. Çalışmamızda bireylerin cinsiyet açısından dağılımında gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p=0,216).

Sigaranın periodontitis gelişmesi için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir.<sup>(166)</sup> Bergström ve arkadaşları, 90.000 kişiyi içeren kesitsel ve vaka kontrolü ve kohort çalışmaların oluşturduğu 100'den fazla yayın üzerinde analiz yapmışlardır.<sup>(167)</sup> Analiz sonuçları, sigara içenlerin periodontal sağlık durumunun içmeyenlere göre önemli ölçüde daha kötü olduğunu gösteren ezici bir çoğunluk olduğunu göstermektedir.<sup>(167)</sup> Sigara vazokonstriksiyona sebep olarak dişetlerindeki kanlanmayı azaltır.<sup>(168)</sup> Nötrofillerin kemotaksisini ve fagositozunu etkileyerek konak savunmasını bozar.<sup>(169)</sup> Aynı zamanda kolajen sentezini azaltır, fibroblastların ataşmanını ve sentezini bozarak

yara iyileşmesi üzerine negatif etki eder.<sup>(170)</sup> Kemik yıkımında önemli rolü olan reseptör aktivatör nükleer faktör kappa-B ligand/osteoprotegrin oranının tükürük düzeylerinin sigara içmeyenlere oranla daha yüksek olduğu gösterilmiştir.<sup>(171)</sup> Bu sebeplerden dolayı çalışmamıza sigara içen bireyler dahil edilmemiştir.

Sistemik bozukluklar ve çevresel maruziyetler vücudun normal savunma mekanizmalarını değiştirebilir ve ortaya çıkan periodontal hastalık formlarını etkileyebilir.<sup>(172)</sup> PMN'lerin sayısında veya işlevindeki azalma, genellikle periodontal yıkımın artmış hızı ve şiddeti ile sonuçlanır.<sup>(172, 173)</sup>

Diyabetin periodontitis riskini ciddi şekilde arttırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>(172, 174)</sup> Diyabeti olan hastalarda periodontal patojenlere karşı aşırı immün cevap gelişebildiği, artan damar permeabilitesi, nötrofil kemotaksisi ve fagositozundaki bozukluklar sonucunda normale göre artmış periodontal doku yıkımı bildirilmiştir.<sup>(175)</sup>

Membran iyon kanal blokörleri, anti-epileptik ilaçlar ve siklosporinler dişeti büyümesi açısından açıkça önemli etkilere sahiptirler ve olumsuz dişeti formu ve psödocep oluşumuna sebep olarak plak tutuculuğunu artırırlar, dolayısıyla periodontitisin lokal modifiye edici faktörleri oldukları ileri sürülmüştür.<sup>(172)</sup>

Osteoporozun periodontitis, diş kaybı ve mandibular atrofi ile olan ilişkisinin sistematik bir incelemesi, Martinez Maestre ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır.<sup>(176)</sup> Hamilelik gibi seks hormonu düzeylerindeki değişimlerin plağın inflamatuvar yanıtını değiştirebileceği ve bunun ağırlıklı olarak tek başına dişeti iltihabına neden olmasına rağmen, bu hastalarda artmış periodontitis riski göz ardı edilemeyeceğini gösterilmiştir.<sup>(177, 178)</sup>

Sistemik antibiyotik kullanımının, periodontal mikroorganizmaların sayısı üzerinde etkili olduğu, savunma hücrelerinin verdiği sitokin cevabını etkilediği aynı zamanda, DOS içeriğini değiştirdiği bildirilmiştir.<sup>(179, 180)</sup> Benzer şekilde periodontal tedavi sonrasında DOS içeriğinin değiştiği ve DOS içeriğinde bulunan biyobelirteç miktarının ciddi şekilde düştüğünde yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>(181, 182)</sup>

Bu sebeplerden; sistemik hastalığa sahip olan bireyler, hamilelik dönemindeki bireyler, son 6 ay içinde antibiyotik kullanmış bireyler, son 6 ay içinde periodontal tedavi görmüş bireyler çalışmamıza dahil edilmemişlerdir.

Çalışmamıza katılan bireylerin, periodontal durumlarının belirlenmesi, aşağıda tartışılan klinik parametrelerin değerlendirilmesiyle yapılmıştır.

Bireyin mevcut ağız hijyeni durumunun belirlenmesi amacıyla, plak indeks (Silness,Löe), plak indeks (O'Leary ve ark), basitleştirilmiş oral hijyen indeksi (Green-Vermillion) gibi indeks yöntemleri mevcuttur. PI (Silness,Löe) basit olması nedeni ile periodontolojide en sık kullanılan, ağız hijyeni belirleme yöntemlerindedir. Bu sebepten dolayı çalışmamızda bireylerin ağız hijyen seviyesini belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Çalışmaya katılan bireylerin PI değerlendirmesine bakıldığında, periodontitis grubunun (1,65±0,20) sağlıklı gruba (0,45±0,14) göre anlamlı dercede yüksek olduğu görülmüştür (p<0,001).

Gingival enflamasyonun tespiti için gingival indeks (GI - Silness, Löe), papil kanama indeksi (PBI – Saxer, Muhleman ) gibi indeks sistemleri kullanılmaktadır. Gingival indeks, dişetinde renk kıvam ve kanamayı gösterirken, mevcut enflamasyonun şiddeti hakkında bilgi verir.<sup>(152, 153)</sup> Silness-Löe gingival indeksi (GI) tüm ağızdaki dişetleri hakkında bilgi vermesi ve kolay uygulanabilirliğinden dolayı çalışmamızda tercih edilmiştir. Çalışmamızda sağlıklı grubu GI skorlarının ortalaması 0,51±0,18 iken, periodontitis grubunda bu ortalama 1,69±0,18 olarak ölçülmüştür ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur(p<0,001).

Genel olarak, periodontitisin klinik teşhisi için bakılan klinik parametreler, sondlanabilir cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS) ve sondlamada kanama ile ölçülen dişetindeki enflamasyonun kombinasyonuna dayanır<sup>(183)</sup>. KAS ve SCD periodontal hastalıkların epidemiyolojisinde kullanılacak en iyi göstergelerdir. KAS ve SCD, periodontal hastalığın geçmişi ve mevcut hastalık durumu hakkında bilgi sağlar<sup>(184, 185)</sup>. Çalışmamızda sağlıklı grubun SCD ortalaması 1,97±0,21 iken periodontitis grubunda 3,71±0,48'dir. KAS ortalaması sağlıklı grupta 1,98±0,21 ve periodontitis grubunda 3,80±0,52 olarak ölçülmüştür. SK değerlerinin ortalamaları ise sağlıklı grupta 7,52±1,28, periodontitis grubunda 74,98±9,70 olarak gözlemlenmekte ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmektedir (p<0,001).

Ertuğrul ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada, periodontal olarak sağlıklı bireylerin, klinik periodontal parametrelerinin (PI, GI, SCD, SK ve KAS), çeşitli şiddetlerdeki periodontal hastalığa sahip bireylerin klinik parametrelerine göre anlamlı olarak daha düşük skorlara sahip olduğunu bildirmiştir.<sup>(186)</sup> Yaptığımız çalışmada da literatüre uyumlu bir şekilde periodontal hastalığa sahip bireylerin, klinik parametrelerinin sağlıklı bireylerde ölçülen klinik parametrelerle kıyaslandığında, anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ( $p<0,001$ ).

Normal biyolojik mekanizmaların, patolojik olayların veya bir tedaviye verilen yanıtın değerlendirilmesinde kullanılan, kantitatif olarak ölçülüp değerlendirmesi yapılabilen bileşik ya da maddelere biyobelirteç denir.<sup>(187)</sup> Periodontal hastalık için teşhis, tedavi ve prognoz açısından öneme sahip çalışmalar uzun zamandır yapılmaktadır.<sup>(188)</sup> Kolayca toplanan, yerel ve sistemik olarak üretilmiş biyobelirteçleri içeren oral sıvılar, periodontal hastalık için hastaya özgü tanısal testler için temel oluşturur.<sup>(29)</sup>

Dişeti oluğu sıvısı, sulkusta biriken ve periodontal hastalığın gelişimi ve durumu hakkında bilgi veren bir sıvıdır.<sup>(189)</sup> 1960 yılından Brill, DOS analizinin, dişeti ve periodontal dokuların durumunu kantitatif olarak değerlendirmenin bir yolu olabileceğini öne sürmüştür.<sup>(190)</sup> Daha sonra Loe ve Holm-Petersen tarafından DOS periodontal hastalıklarda belirteç olarak kullanılmıştır.<sup>(191)</sup> DOS'un ozmotik gradyanın bir sonucu olarak sulkusta biriken ara fizyolojik sıvı olduğu belirtilmiş ve bu sıvının bir transüda olduğu düşünülmüştür ve stimülasyon sonrasında, iltihaplı bir eksüda haline geldiği ortaya atılmıştır.<sup>(192)</sup> 1960 yılından bu yana, yapılan çalışmalarda DOS'un içeriğinin değerlendirilmesinin, periodontal hastalıkların daha iyi anlaşılmasında yol gösterici olduğu vurgulanmıştır.<sup>(31)</sup> Kapiller tüp yöntemi, yıkama yöntemi ve kağıt şerit yöntemi olmak üzere 3 farklı DOS toplama yöntemi mevcuttur.<sup>(193)</sup> Hızlı ve kolay uygulama avantajlarından dolayı en yaygın uygulanan yöntem kağıt şerit yöntemidir. Majeed yaptığı araştırmada, DOS örneği alınarak yapılan çalışmaların yüzde 71.1'inin kağıt şerit yöntemi, yüzde 24.7'sinin kapiller tüp yöntemi, yüzde 4.1'inin yıkama yöntemi kullandığını saptamıştır.<sup>(193)</sup> Bu yöntemde, DOS toplanması amacıyla, dişeti oluğuna kağıt şeritler yerleştirilir. Örnekleme yapılacak dişteki plak uzaklaştırılır, tükürük ve kan kontaminasyonunu engellemek için diş dik bir şekilde 5 saniye boyunca hava spreyi sıkılır.<sup>(194)</sup> Kağıt şerit hafif direnç hissedene kadar ilerletilir (oluk içi yöntem). İritasyon ve kontaminasyon riskini

arttırmaması için, örnekleme süresinin 30 saniyeden fazla olmaması önerilir.<sup>(189)</sup> Daha sonra DOS hacmi ölçümü yapılır ve şeritler eppendorf tüpüne yerleştirilir. Çalışmamızda kullandığımız yöntem kağıt şerit yöntemidir. Kağıt şeritlerin tamamı 30 saniye boyunca sulkusta bekletilmişlerdir. Tükürük, kan ve plak ile kontamine örnekler çalışma dışı tutulmuştur. Sonrasında örneklerdeki DOS hacmi Periotron® 8010 (Oraflow Inc., New York, USA) cihazı ile ölçülmüştür. Kontaminasyonu engellemek için her ölçümden sonra cihaz etanol ile temizlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada sağlıklı bireylerden elde edilen DOS hacmi ortalaması  $0,08 \pm 0,05$  iken, periodontitis grubundan elde edilen DOS hacmi ortalaması  $0,55 \pm 0,24$ 'tür ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ( $p < 0,001$ ). Toyman ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, periodontitis hastalarındaki DOS hacimlerinin, sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu rapor edilmiştir.<sup>(195)</sup> Aynı şekilde daha önceden yapılmış çalışmalarda periodontitiste DOS hacminin sağlık durumuna göre artmış olduğu gösterilmiştir.<sup>(196-201)</sup>

DOS hacmi ile klinik parametreler arasındaki pozitif ilişki daha önceki yapılmış çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>(202-205)</sup> Smith ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada periodontal hastalık ve sağlık arasında karşılaştırma yapmışlar ve klinik parametrelerin arttığı durumda DOS hacminin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığını göstermişlerdir.<sup>(203)</sup> Tsai ve ark periodontal tedavinin sonrası DOS içeriği ve hacmini değerlendirdikleri çalışmada tedavi sonrasında DOS hacminin anlamlı derecede düştüğünün altını çizmişlerdir.<sup>(206)</sup> Çalışmamızda DOS hacmi ile klinik parametreler Pİ ( $r:0,722$ ), Gİ ( $r:0,740$ ), SCD ( $r:0,742$ ), KAS ( $r:0,751$ ) ve SK ( $r:0,752$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki görülmektedir ( $p < 0,01$ ).

DOS içeriğinin analiz edilmesi için MPBI (multiplexed bead immunoassay), SPI (Spektrofotometre), IFMA (İmmüno florometrik Test), ELİSA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), WBR (Western Blot Radioimmunoassay) gibi farklı yöntemler mevcuttur. Analizde kullanılan tekniklere odaklanan iyi tasarlanmış çalışmalardan elde edilen verilerin eksikliği, her tekniğin bazı avantaj ve bazı dezavantajlarının mevcut olmasından dolayı, belirli bir tekniğin diğerinden daha iyi olduğunu söylemek zordur.<sup>(193)</sup> Bu yüzden uygun yöntemi belirlemek için; biyobelirteç tespiti ve nicelemesinde doğruluk, verimlilik, uygulanabilirlik, maliyet ve

zaman kriterlerine bakılmaktadır.<sup>(193)</sup> ELISA, periodontolojide en yaygın kullanılan DOS içeriği belirleme yöntemlerindedir ve periodontal hastalık patogenezinde önemli rol oynayan birçok biyobelirteçi içermektedir.<sup>(207)</sup> Araştırmacıların çoğunun ELISA tekniğini, muhtemelen basitliğinden dolayı klinik çalışmalarında kullandıkları açıkça gösterilmiştir.<sup>(193)</sup> ELISA tekniğinin kendi içinde direk, indirek, sandviç ve kompetatif olmak üzere farklı türleri vardır.<sup>(208)</sup> Sandviç tekniği minimal örnek saflaştırma ihtiyacı ve yüksek hassasiyete sahiptir bununla birlikte zaman alması ve yüksek fiyat dezavantajları vardır.<sup>(209)</sup> Sandviç ELISA'larının diğer tüm ELISA'lardan 2–5 kat daha hassas olduğu bildirilmiştir.<sup>(208)</sup> Bu sebepten dolayı çalışmamızda sandviç ELISA tekniği kullanılmıştır.

Sitokinler periodontal hastalıkların patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır.<sup>(210)</sup> Pro-inflamatuar sitokinler, periodontal inflamasyona ve doku hasarına yol açan IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-17'yi içerir.<sup>(143)</sup> IL-1 $\beta$ , ağırlıklı olarak monositler / makrofajlar tarafından üretilir, ama aynı zamanda fibroblastlar ve kemik hücreleri tarafından da üretililebilir.<sup>(211, 212)</sup> Üretimi mikroorganizmalar, mikrobiyal ürünler, enflamatuar ajanlar ve antijenler tarafından indüklenebilir.<sup>(213)</sup> Biyolojik etkilerinden bazıları arasında T lenfositlerin ve lenfokin üretiminin uyarılması, B-lenfositlerin çoğalması ve antikor üretimi, fibroblast proliferasyonu, monositler ve fibroblastlar tarafından prostaglandin (PGE2) salınımının uyarılması yer alır.<sup>(213, 214)</sup> Aynı zamanda IL-1 $\beta$ , hücre dışı matrisin bozulmasına katkıda bulunan ve daha sonra kemik rezorpsiyonuna ve doku tahribatına yol açan kollajenolitik enzimlerin, matriks metaloproteinazların (MMP'ler) ekspresyonunu artırır.<sup>(15)</sup> IL-1 $\beta$  osteoklast oluşumunu ve kemik erimesini de teşvik eder ve nötrofil kemotaksisini ve aktivasyonunu ve endotel hücre fonksiyonunu etkiler.<sup>(125, 215)</sup> Proinflamatuvar sitokinler üzerine yapılan çalışmalar, periodontal hastalığa sahip bireylerin dişeti oluğu sıvısındaki IL-1 $\beta$  düzeylerinin, periodontal olarak sağlıklı gruba göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu göstermiştir.<sup>(216-219)</sup>

Majeed ve arkadaşları, periodontal hastalıkların teşhis ve tedavisinde DOS'taki çeşitli biyobelirteçleri değerlendirdikleri sistematik bir derlemede, DOS ve periodontitis arasındaki ilişkiyi inceleyen 97 makaleyi incelemişler ve değerlendirilen biyobelirteçler arasında IL-1 $\beta$ 'nın teşhis ve tedavi açısından en güvenilir olduğu sonucuna varmışlardır.<sup>(193)</sup>

Yavuzyılmaz ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada ortalama cep derinliğinin artması ile DOS IL-1 $\beta$  seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı derece arttığını göstermişlerdir.<sup>(210)</sup> Aynı zamanda DOS IL-1 $\beta$  seviyelerinin ortalama cep derinlikleri ve sondalama sırasında kanamanın varlığı ile pozitif yönlü güçlü bir ilişki gösterdiğini kanıtlamışlardır.<sup>(210)</sup>

Fitzsimmons ve arkadaşları, DOS'ta IL-1 $\beta$  total miktarı ve periodontal hastalık arasındaki bağlantıyı göstermek adına, periodontal hastalığa sahip ve sağlıklı 1073 birey ile yaptıkları çalışmada, klinik parametreler ve IL-1 $\beta$  arasında pozitif yönlü güçlü bir ilişki olduğunu göstermişlerdir.<sup>(220)</sup> Aynı zamanda, periodontal hastalığa sahip bireylerde IL-1 $\beta$  total miktarının sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek bulunduğu rapor etmişlerdir.<sup>(220)</sup>

Zhong ve arkadaşları, 52-74 yaşları arasındaki 6277 bireyi kapsayan, IL-1 $\beta$  ve PGE<sub>2</sub> ile klinik periodontal parametreleri karşılaştıran çalışma yapmışlardır. Bu çalışma sonucunda IL-1 $\beta$ 'nin cep derinliği ve sondlamada kanama ile pozitif yönlü ilişki içinde olduğu, SCD ve SK'nın arttığı durumlarda DOS'taki IL-1 $\beta$  seviyesinin anlamlı derecede arttığını bildirmişlerdir.<sup>(187)</sup>

Preiss ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada artmış IL-1 $\beta$  seviyelerinin sadece sondlamada kanama parametresi ile güçlü kolerasyon gösterdiğini, diğer parametrelerle ise (SCD, KAS) zayıf bir ilişki gösterdiğini belirtmiştir.<sup>(221)</sup>

Goutoudi ve arkadaşları, 72 periodontal hastalığa sahip ve 24 sağlıklı bölgeden elde ettikleri DOS örneklerinin inceledikleri bir çalışmada periodontal hastalıkta sağlık durumuna göre DOS IL-1 $\beta$  seviyelerinin anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmiştir.<sup>(2)</sup> Aynı zamanda total IL-1 $\beta$  seviyelerinin PI ve GI ile pozitif yönlü güçlü bir ilişki gösterdiğini vurgulamıştır.<sup>(2)</sup>

Tsai ve arkadaşları, 21 birey üzerinde yaptıkları çalışmada bireyleri deney (periodontitis) grubu ve kontrol (sağlıklı) grubu olarak ayırmışlar ve DOS total IL-1 $\beta$ , IL-8 miktarlarını değerlendirmişlerdir.<sup>(206)</sup> Yapılan çalışmada kontrol grubu DOS IL-1 $\beta$  miktarının oldukça düşük olduğu kaydedilmiştir. IL-1 $\beta$ 'nin hem konsantrasyonu hem de toplam miktarları açısından deney ve kontrol gruplarının istatistiksel ortalama değerleri arasında önemli farklılıklar bulunmuştur. Deney grubu, kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde daha yüksek bir DOS hacmi göstermiştir. Bununla birlikte

periodontitis grubunda, sağlıklı gruba göre tüm klinik parametrelerin, total IL-1 $\beta$  miktarı ile pozitif kolerasyon gösterdiğinin altını çizmişlerdir.

Ishihara ve arkadaşları, toplam 75 bireydeki DOS örneklerini incelemişler ve sağlıklı bireylerden elde edilen DOS örneklerinde IL-1 $\beta$ 'ya rastlamamışlardır.<sup>(222)</sup> Periodontal hastalığa sahip bireylerde, DOS IL-1 $\beta$  total miktarının ise hastalığın şiddetiyle doğru orantılı şekilde arttığını tespit etmişlerdir.<sup>(222)</sup>

Giannopoulou ve arkadaşları, 80 hastadan toplam 320 DOS örneği (her yarım çeneden 1 örnek olarak) toplayarak bu örnekleri analiz etmişlerdir.<sup>(223)</sup> Elde ettikleri veriler, artmış total IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-8 miktarlarının, periodontal yıkım gösteren bölgeler ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda hızlı ve şiddetli yıkım olan bölgelerdeki IL-1 $\beta$  total miktarının diğer bölgelere göre daha yüksek olduğunu vurgulamışlardır.<sup>(223)</sup>

Hou ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada hastalıklı bölgelerden elde edilen DOS örnekleri içerisinde önemli miktarlarda IL-1 $\beta$  bulunduğuna ve tedaviden sonra dikkate değer azalmalar gözlemlediklerini bildirmişler ve DOS'ta IL-1 $\beta$  toplam miktarının ölçümünün, periodontal hastalık aktivitesini izlemek için değerli bir yardımcı olabileceğini vurgulamışlardır.<sup>(181)</sup> Aynı zamanda toplam IL-1 $\beta$  miktarı ile GI ve SCD arasında güçlü bir ilişki olduğunun altını çizmişlerdir.<sup>(181)</sup>

Gilowski ve ark toplam, 80 birey üzerinde (50 periodontitis, 30 sağlıklı) IL-1 $\beta$  ve IL-1 $\beta$  reseptör antagonisti (IL-1ra) seviyelerinin değerlendirilmesi üzerine bir çalışma yapmışlardır.<sup>(224)</sup> Yapılan çalışma; ortalama DOS hacmi periodontitis grubunda üç kat daha yüksek olduğu (0.96'ya karşı 0.28 ml), DOS IL-1 $\beta$  konsantrasyonun periodontitis grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu, DOS IL-1 $\beta$  total miktarının aynı şekilde periodontitis grubunda anlamlı derecede daha yüksek olduğu, klinik parametrelerinde periodontitis grubunda anlamlı derecede yüksek olduğu ve IL-1 $\beta$  total miktarı ile pozitif yönlü bir ilişki gösterdiği sonucuna varmışlardır.<sup>(224)</sup>

IL-1 $\beta$ 'nin periodontal hastalıklar üzerindeki etkileri, önemi ve periodontal hastalıklarda yol gösterici olmasından dolayı çalışmamıza dahil edilmiştir. Yaptığımız çalışmada mevcut literatüre uyumlu şekilde sağlıklı gruptaki DOS IL-1 $\beta$  miktarı ortalaması 22,87 $\pm$ 25,24 iken, periodontitis grubunda bu ortalama değer 129,24 $\pm$ 162,22

olarak görülmektedir ( $p < 0,001$ ). DOS IL-1 $\beta$  seviyesi ile DOS hacmi arasında ( $r = 0,554$ ) pozitif anlamlı ilişki bulunmaktadır ( $p < 0,01$ ). Aynı şekilde IL-1 $\beta$  miktarı ile PI ( $r = 0,494$ ), GI ( $r = 0,483$ ), SCD ( $r = 0,501$ ), KAS ( $r = 0,516$ ), SK ( $r = 0,516$ ) arasında pozitif korelasyon görülmektedir ( $p < 0,01$ ).

Nötrofiller patojeni yakalayan ve öldüren nötrofil ekstrasellüler tuzak (neutrophil extracellular traps-NET) olarak adlandırılan yapıların salınımını yaparlar.<sup>(67)</sup> Bu yapılar bakterisidal geçirgenlik artırıcı protein (BPI), kromatin yapılar ve histonlar gibi proteinlerdir ve patojenlere karşı savunmanın ilk adımını temsil ederler.<sup>(67, 225)</sup>

BPI, esas olarak nötrofillerin granüllerinde ve daha az ölçüde eozinofillerde bulunan, yaklaşık 55 kD (55 kilodalton) moleküler ağırlığa sahip tek zincirli bir katyonik proteindir.<sup>(226, 227)</sup> BPI gram-negatif bakterilerin dış zar yapısındaki lipopolisakkaritin lipid A bölgesine yüksek afiniteye sahiptir olması sayesinde bu bakterilere sitotoksik etki gösterir.<sup>(225)</sup> BPI'in, GNB'ye karşı sitotoksik etkisi iki aşamada meydana gelir: BPI'nin bağlanması, dış zardaki değişikliklere bağlı olarak ani bakteri büyümesinin durmasına neden olur, bu etkilerin her ikisi de başlangıçta tersine çevrilebilir, ardından iç zarda hasara neden olan bakterisidal olaylar görülür.<sup>(228)</sup> Bu nedenlerle BPI, sitokin salınımının indüksiyonu, nötrofil oksidaz enziminin aktivasyonu, nitrik oksit oluşumu vb. dahil olmak üzere lipopolisakkaritlerin birçok proinflamatuvar aktivitesini inhibe edebilir.<sup>(80, 81, 229, 230)</sup>

BPI'in, gram-negatif bakterilere ve bu bakterilerin dış zarındaki lipopolisakkaritlere karşı seçici ve güçlü etkisi, plazma, serum ve tam kan dahil olmak üzere biyolojik sıvılarda tamamen kendini gösterir.<sup>(72, 80)</sup> Oral ve gastrointestinal kanalın epitel hücreleri, kararlı bir lipoxin analogu olan LXA4'e maruz kalmalarıyla BPI salgırlar.<sup>(87, 88)</sup> Enflamasyon sırasında nötrofil-epitel etkileşimleri, transselüler biyosentez yoluyla LXA4 üretimiyle sonuçlanır. Bu tür yerlerde, LXA4 reseptörü (LXA4R) aktivasyonu, BPI geninin transkripsiyonel aktivasyonuna ve ardından epitel hücre yüzeyinde BPI'nin ekspresyonuna yol açar.<sup>(225)</sup> Pouliot ve arkadaşları, Porphyromonas Gingivalisin egemen olduğu periodontal hastalık modellerinde sentetik Lipoxin A(4) analogu kullanarak siklooksijenaz-2 ve lipoksinlerin periodontal hastalıklardaki rolünü inceleyen bir çalışma yapmışlardır.<sup>(231)</sup> Stabil sentetik Lipoxin A(4) analogu olan ATLa (15-epi-16-(p-fluoro)-phenoxy-LXA4)

uygulamasını ile bir rat hava kesesi modelinde diş patojeni *Porphyromonas Gingivalis* tarafından indüklenen inflamasyonun çözümlenmesini arttığı gösterilmiştir.<sup>(231)</sup>

Levin ve arkadaşları, şiddetli meningokokal sepsisli çocuklara ek tedavi olarak BPI'nin rekombine 21-kDa modifiye fragmanı (rBPI21) vererek bir çalışma yapmışlardır.<sup>(232)</sup> Toplam 190 çocuğa (rBPI21 grubu) ek tedavi olarak rBPI21 verilmiş, 203 çocuğa (placebo grubu) ise verilmemiştir. Placebo grubuna kıyasla rBPI21 grubunda şiddetli amputasyon dahil olmak üzere azalmış komplikasyonlar görölmüştür.<sup>(232)</sup>

Chen ve arkadaşları, kronik obstruktif akciğer hastalıkları ile BPI arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışma yapmışlardır.<sup>(156)</sup> Çalışmaya 107 kronik obstruktif akciğer hastalığına sahip birey ve 110 hastalığa sahip olmayan birey (kontrol grubu) dahil etmişlerdir.<sup>(156)</sup> Toplam 217 bireyin BPI genleri, polimeraz zincir reaksiyonu, BPI polimorfizm analizi ile, plazma BPI seviyesi ELISA analizi ile değerlendirmişlerdir.<sup>(156)</sup> Sonuç olarak BPI mutasyonu ve azalmış plazma BPI seviyesinin, KOAH'a yatkınlıkta önemli risk faktörü olduğu vurgulamışlardır.<sup>(156)</sup>

Xingyuan ve arkadaşları, serum BPI seviyelerinin astım için yeni bir biyobelirteç olup olmadığını araştırmışlardır.<sup>(233)</sup> Çalışmaya 18 kontrol altında astım hastası, 39 kontrol altında olmayan astım hastası ve 35 sağlıklı birey dahil etmişlerdir.<sup>(233)</sup> Elde edilen sonuçlar serum BPI seviyelerinin sağlıklı gruba göre kontrollü astım grubunda 2 kat, kontrolsüz astım grubunda ise 3 kat arttığını göstermiştir.<sup>(233)</sup>

Can ve arkadaşları, Türk popülasyonunda BPI gen polimorfizminin, enflamatuar bağırsak hastalıkları ile olan ilişkisini araştırdıkları çalışmadan elde ettikleri sonuçlar, BPI Lys216Glu gen polimorfizminin hem Crohn hastalığı hem de ülseratif kolit ile ilişkili olduğu yöndedir.<sup>(234)</sup> Yapılan çalışmada BPI gen polimorfizmi ile enflamatuar bağırsak hastalığının fenotipleri arasında başka bir ilişki olmadığı görölmüştür.<sup>(234)</sup>

Guerra-Ruiz ve arkadaşları, 130 hasta ve 30 sağlıklı bireyi kapsayan BPI ve siroz arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmada, plazma BPI, LPB (lipopolisakkarit bağlayıcı protein), çözülebilir CD14, TNF- $\alpha$  plazma düzeyleri ve nötrofillerdeki BPI mRNA salınım düzeylerini incelemişlerdir.<sup>(235)</sup> Sirozlu hastalar, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BPI, mRNA ve plazma BPI seviyelerinde artış olduğunu

gösterilmiştir. TNF- $\alpha$  ve plazma BPI seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur.<sup>(235)</sup>

Nell ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada, BPI etkinliğini, efüzyonlu kronik orta kulak iltihabı olan fare modelinde değerlendirilmişlerdir.<sup>(236)</sup> BPI enjeksiyonun orta kulağın mukosilyer klirens sisteminin bozulmasını önlediği, bu nedenle, BPI'nin efüzyonlu kronik otitis media için yeni bir terapötik ajan olabileceğini vurgulamışlardır.<sup>(236)</sup>

Lavy ve arkadaşları, BPI'nin terapötik potansiyelini inceledikleri bir makalede, gram-negatif bakterilerin neden olduğu hastalıklığa sahip ve endotoksemili hastalarda bu yeni ajanın farklı fragmanlarının kullanılmasının yararlı olabileceği sonucuna varmışlardır.<sup>(237)</sup>

Yaptığımız çalışmada BPI'nin DOS'taki total miktarının (pg/30sn) ölçülebilir olduğu görülmüştür. Elde edilen verilere göre periodontitis grubundaki BPI miktarı (180,55±57,72) sağlıklı gruptaki BPI miktarına göre (121,30±101,93) anlamlı derecede yüksektir ( $p<0,001$ ). Bununla birlikte BPI ile PI ( $r=0,433$ ), GI ( $r=0,477$ ), SCD ( $r=0,392$ ), KAS( $r=0,418$ ), SK ( $r=0,439$ ), ve DOS hacmi ( $r=0,367$ ) arasında anlamlı pozitif ilişki saptanmıştır ( $p<0,01$ .)

Çalışmadan elde edilen veriler tümüyle ele alındığında DOS'tan toplanabilen en güvenilir biyobelirteç olan IL-1 $\beta$  ve yeni bir antimikrobiyal peptid olan BPI'nin, periodontal hastalikle ilişkili tüm klinik parametrelerin tümüyle olan ilişkisin benzer olduğu dikkat çekicidir. SCD ile IL-1 $\beta$  arasındaki korelasyon katsayısı 0,501 iken BPI ile SCD arasındaki korelasyon katsayısı 0,392'dir. Bu da bize SCD ile BPI arasındaki pozitif anlamlı ilişkinin, SCD ile IL-1 $\beta$  arasındakine oldukça yakın olduğunu göstermektedir. Benzer yakınlıklar diğer parametreler içinde geçerlidir. KAS ile IL-1 $\beta$  arasındaki korelasyon katsayısı 0,516, KAS ile BPI arasındaki korelasyon katsayısı 0,418'dir. SK ile IL-1 $\beta$  arasındaki korelasyon katsayısı 0,516 iken SK ile BPI arasındaki korelasyon katsayısı 0,439'dur. GI ile IL-1 $\beta$  arasındaki korelasyon katsayısı 0,483, BPI ile ise 0,477'dir. PI ile IL-1 $\beta$  arasındaki korelasyon katsayısı 0,494, BPI ile 0,433 olarak görülmektedir.

BPI çok yeni ve tam olarak hastalıklardaki mekanizması anlaşılmamış bir peptid olmasının yanı sıra mevcut çalışmalarda ortaya çıkan antibakteriyel özellikleri,

lipopolisakkarit nötralizasyonu gibi periodontal hastalıklar açısından oldukça önemli özellikleri dikkat çekmektedir. Bununla birlikte diagnostik ve terapotik potansiyelinin olması periodontal hastalıklarda dahil, birçok gram negatif bakterilerin egemen olduğu enfeksiyon için temel ya da alternatif bir ajan olarak kullanılabilceğinin sinyalini verir. Tüm bu bilgiler doğrultusunda BPI'ın peridontal hastalıklardaki görevinin tam olarak anlaşılması için kapsamlı çalışmalar gerekmektedir.

BPI'ın doğal immün yanıtta önemli, gram-negatif bakterilerle mücadeledeki rolü, potansiyel terapotik etkisi göz önüne alındığında periodontal hastalıkların patogenezi, teşhisi ve tedavisinde yeni sayfalar açabileceğini düşünmekteyiz.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapığımız çalışmada periodontal hastalığa sahip bireyler ile periodontal açıdan sağlıklı bireylerin dişeti oluğu sıvısındaki BPI ve IL-1 $\beta$  miktarları incelenmesi amaçlanmıştır. Aynı zamanda dişeti oluğu sıvısındaki BPI ve IL-1 $\beta$  miktarlarının klinik parametreler, DOS hacmi arasındaki ilişki kıyaslanmıştır. Mevcut veriler analiz edildiğinde:

1. İlk defa bir çalışmada DOS içerisinde BPI araştırılmıştır.
2. Mevcut numunelerin tamamında BPI total miktarı (pg/30sn) saptanabilmiştir.
3. Klinik parametreler ve DOS BPI miktarı pozitif korelasyon göstermektedir.
4. DOS hacminin artması ile DOS BPI miktarı pozitif ilişki içindedir.
5. DOS total BPI miktarı periodontal hastalığa sahip bireylerde sağlıklı bireylere oranla anlamlı derecede yüksektir.
6. IL-1 $\beta$  miktarı ile DOS hacmi arasında pozitif korelasyon mevcuttur. Periodontal hastalığa sahip bireylerdeki IL-1 $\beta$  miktarı periodontal açıdan sağlıklı bireylerdekilere göre anlamlı derecede yüksektir. Aynı zamanda IL-1 $\beta$  miktarı ile klinik parametreler arasında pozitif korelasyon görülmektedir.
7. Periodontitisle BPI arasındaki ilişkinin daha net anlaşılması, BPI ile yapılan çalışmaların azlığı nedeniyle daha fazla ve kapsamlı çalışmaların yapılmasını gerektirmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. Nature reviews Disease primers. 2017;3:17038.
2. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1beta and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. Journal of dentistry. 2004;32(7):511-20.
3. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner AC, Yu WH, et al. The human oral microbiome. Journal of bacteriology. 2010;192(19):5002-17.
4. Lourenço TG, Heller D, Silva-Boghossian CM, Cotton SL, Paster BJ, Colombo AP. Microbial signature profiles of periodontally healthy and diseased patients. Journal of clinical periodontology. 2014;41(11):1027-36.
5. Gotsman I, Lotan C, Soskolne WA, Rassevsky S, Pugatsch T, Lapidus L, et al. Periodontal destruction is associated with coronary artery disease and periodontal infection with acute coronary syndrome. Journal of periodontology. 2007;78(5):849-58.
6. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. Journal of periodontology. 2018;89 Suppl 1:S159-s72.
7. Lamster IB. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. Annals of periodontology. 1997;2(1):123-37.
8. Lamster IB, Ahlo JK. Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. Annals of the New York Academy of Sciences. 2007;1098:216-29.
9. Balkwill FR, Burke F. The cytokine network. Immunol Today. 1989;10(9):299-304.
10. Taylor JJ, Preshaw PM, Donaldson PT. Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. Periodontol 2000. 2004;35:158-82.
11. Ebersole JL, Cappelli D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. Periodontology 2000. 2000;23:19-49.
12. Delaleu N, Bickel M. Interleukin-1 beta and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. Periodontol 2000. 2004;35:42-52.
13. Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid:

implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol Res.* 1990;25(3):156-63.

14. Tuter G, Kurtis B, Serdar M. Interleukin-1beta and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *Journal of periodontology.* 2001;72(7):883-8.

15. Schett G, Dayer JM, Manger B. Interleukin-1 function and role in rheumatic disease. *Nature reviews Rheumatology.* 2016;12(1):14-24.

16. Canny G, Levy O. Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) and BPI homologs at mucosal sites. *Trends in immunology.* 2008;29:541-7.

17. Organization WH, editor Preamble to the Constitution of the World Health Organization as adopted by the International Health Conference 1948: Official Records of the World Health Organization.

18. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *Journal of periodontology.* 2018;89 Suppl 1:S9-s16.

19. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology.* 2018;89 Suppl 1:S173-s82.

20. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJ, Marcenes W. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *Journal of dental research.* 2014;93(11):1045-53.

21. Baehni P, Tonetti MS. Conclusions and consensus statements on periodontal health, policy and education in Europe: a call for action--consensus view 1. Consensus report of the 1st European Workshop on Periodontal Education. *European journal of dental education : official journal of the Association for Dental Education in Europe.* 2010;14 Suppl 1:2-3.

22. Needleman I, McGrath C, Floyd P, Biddle A. Impact of oral health on the life quality of periodontal patients. *Journal of clinical periodontology.* 2004;31(6):454-7.

23. Papapostolou A, Kroffke B, Tatakis DN, Nagaraja HN, Kumar PS. Contribution of host genotype to the composition of health-associated supragingival and subgingival microbiomes. *Journal of Clinical Periodontology.* 2011;38(6):517-24.

24. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 1994;5:78-111.

25. Caton JG, Quinones CR. Etiology of periodontal diseases. *Curr Opin Dent.* 1991;1(1):17-28.
26. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontology 2000.* 2003;31:43-54.
27. Page RC. Host response tests for diagnosing periodontal diseases. *Journal of periodontology.* 1992;63(4 Suppl):356-66.
28. Uitto VJ. Gingival crevice fluid--an introduction. *Periodontology 2000.* 2003;31:9-11.
29. Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontology 2000.* 2016;70(1):53-64.
30. Fiorini T, Vianna P, Weidlich P, Musskopf ML, Moreira CH, Chies JA, et al. Relationship between cytokine levels in serum and gingival crevicular fluid (GCF) in pregnant women. *Cytokine.* 2012;58(1):34-9.
31. Armitage GC. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontology 2000.* 2004;34:109-19.
32. Genco RJ. Host responses in periodontal diseases: current concepts. *Journal of periodontology.* 1992;63(4 Suppl):338-55.
33. Diaz PI, Hoare A, Hong BY. Subgingival Microbiome Shifts and Community Dynamics in Periodontal Diseases. *J Calif Dent Assoc.* 2016;44(7):421-35.
34. Lamont RJ, Hajishengallis G. Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease. *Trends Mol Med.* 2015;21(3):172-83.
35. Hajishengallis G. New developments in neutrophil biology and periodontitis. *Periodontology 2000.* 2020;82(1):78-92.
36. Slots J. Microflora in the healthy gingival sulcus in man. *Scand J Dent Res.* 1977;85(4):247-54.
37. Bos R, van der Mei HC, Busscher HJ. Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions--its mechanisms and methods for study. *FEMS Microbiol Rev.* 1999;23(2):179-230.
38. Nobbs AH, Jenkinson HF, Jakubovics NS. Stick to your gums: mechanisms of oral microbial adherence. *J Dent Res.* 2011;90(11):1271-8.
39. Ramberg P, Sekino S, Uzel NG, Socransky S, Lindhe J. Bacterial colonization during de novo plaque formation. *J Clin Periodontol.* 2003;30(11):990-5.
40. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000.* 2002;28:12-55.

41. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998;25(2):134-44.
42. Zambon JJ. Periodontal diseases: microbial factors. *Ann Periodontol.* 1996;1(1):879-925.
43. Kolenbrander PE, Andersen RN, Moore LV. Intrageneric coaggregation among strains of human oral bacteria: potential role in primary colonization of the tooth surface. *Appl Environ Microbiol.* 1990;56(12):3890-4.
44. Kolenbrander PE, Parrish KD, Andersen RN, Greenberg EP. Intergeneric coaggregation of oral *Treponema* spp. with *Fusobacterium* spp. and intrageneric coaggregation among *Fusobacterium* spp. *Infect Immun.* 1995;63(12):4584-8.
45. McCabe RM, Donkersloot JA. Adherence of *Veillonella* species mediated by extracellular glucosyltransferase from *Streptococcus salivarius*. *Infect Immun.* 1977;18(3):726-34.
46. Kolenbrander PE, Palmer RJ, Jr., Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontol 2000.* 2006;42:47-79.
47. Moore WE, Moore LV. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 1994;5:66-77.
48. Andersen RN, Ganeshkumar N, Kolenbrander PE. *Helicobacter pylori* adheres selectively to *Fusobacterium* spp. *Oral Microbiol Immunol.* 1998;13(1):51-4.
49. Kolenbrander PE, Andersen RN, Moore LV. Coaggregation of *Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas flueggei*, *Selenomonas infelix*, *Selenomonas noxia*, and *Selenomonas sputigena* with strains from 11 genera of oral bacteria. *Infect Immun.* 1989;57(10):3194-203.
50. Listgarten MA. The structure of dental plaque. *Periodontol 2000.* 1994;5:52-65.
51. Listgarten MA. Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study. *J Periodontol.* 1976;47(1):1-18.
52. Carranza FA, Jr., Saglie R, Newman MG, Valentin PL. Scanning and transmission electron microscopic study of tissue-invading microorganisms in localized juvenile periodontitis. *J Periodontol.* 1983;54(10):598-617.
53. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat Rev Microbiol.* 2012;10(10):717-25.

54. Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol.* 2012;27(6):409-19.
55. Bostanci N, Thurnheer T, Aduse-Opoku J, Curtis MA, Zinkernagel AS, Belibasakis GN. *Porphyromonas gingivalis* regulates TREM-1 in human polymorphonuclear neutrophils via its gingipains. *PLoS One.* 2013;8(10):e75784.
56. Van Dyke TE, van Winkelhoff AJ. Infection and inflammatory mechanisms. *Journal of periodontology.* 2013;84(4 Suppl):S1-7.
57. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell.* 2010;140(6):805-20.
58. Genco RJ, Slots J. Host responses in periodontal diseases. *J Dent Res.* 1984;63(3):441-51.
59. Ebersole JL, Dawson DR, 3rd, Morford LA, Peyyala R, Miller CS, González OA. Periodontal disease immunology: 'double indemnity' in protecting the host. *Periodontol 2000.* 2013;62(1):163-202.
60. Dennison DK, Van Dyke TE. The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease. *Periodontol 2000.* 1997;14:54-78.
61. Hajishengallis G, Korostoff JM. Revisiting the Page & Schroeder model: the good, the bad and the unknowns in the periodontal host response 40 years later. *Periodontol 2000.* 2017;75(1):116-51.
62. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000.* 1997;14:216-48.
63. Phillipson M, Heit B, Colarusso P, Liu L, Ballantyne CM, Kubes P. Intraluminal crawling of neutrophils to emigration sites: a molecularly distinct process from adhesion in the recruitment cascade. *J Exp Med.* 2006;203(12):2569-75.
64. Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S. Recent developments and complexities in neutrophil transmigration. *Curr Opin Hematol.* 2010;17(1):9-17.
65. Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes. *Immunity.* 2010;33(5):657-70.
66. Nussbaum G, Shapira L. How has neutrophil research improved our understanding of periodontal pathogenesis? *J Clin Periodontol.* 2011;38 Suppl 11:49-59.

67. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303(5663):1532-5.
68. Steinberg BE, Grinstein S. Unconventional roles of the NADPH oxidase: signaling, ion homeostasis, and cell death. *Sci STKE*. 2007;2007(379):pe11.
69. Patel S, Kumar S, Jyoti A, Srinag BS, Keshari RS, Saluja R, et al. Nitric oxide donors release extracellular traps from human neutrophils by augmenting free radical generation. *Nitric Oxide*. 2010;22(3):226-34.
70. Remijsen Q, Kuijpers TW, Wirawan E, Lippens S, Vandenabeele P, Vanden Berghe T. Dying for a cause: NETosis, mechanisms behind an antimicrobial cell death modality. *Cell Death Differ*. 2011;18(4):581-8.
71. Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol*. 2007;176(2):231-41.
72. Levy O, Sisson RB, Kenyon J, Eichenwald E, Macone AB, Goldmann D. Enhancement of neonatal innate defense: effects of adding an N-terminal recombinant fragment of bactericidal/permeability-increasing protein on growth and tumor necrosis factor-inducing activity of gram-negative bacteria tested in neonatal cord blood ex vivo. *Infection and immunity*. 2000;68(9):5120-5.
73. Weiss J. Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) and lipopolysaccharide-binding protein (LBP): structure, function and regulation in host defence against Gram-negative bacteria. *Biochem Soc Trans*. 2003;31(Pt 4):785-90.
74. Beamer LJ, Carroll SF, Eisenberg D. Crystal structure of human BPI and two bound phospholipids at 2.4 angstrom resolution. *Science*. 1997;276(5320):1861-4.
75. Ooi CE, Weiss J, Doerfler ME, Elsbach P. Endotoxin-neutralizing properties of the 25 kD N-terminal fragment and a newly isolated 30 kD C-terminal fragment of the 55-60 kD bactericidal/permeability-increasing protein of human neutrophils. *J Exp Med*. 1991;174(3):649-55.
76. Iovine NM, Elsbach P, Weiss J. An opsonic function of the neutrophil bactericidal/permeability-increasing protein depends on both its N- and C-terminal domains. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(20):10973-8.
77. Schultz H, Weiss JP. The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) in infection and inflammatory disease. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2007;384(1-2):12-23.

78. Gazzano-Santoro H, Parent JB, Grinna L, Horwitz A, Parsons T, Theofan G, et al. High-affinity binding of the bactericidal/permeability-increasing protein and a recombinant amino-terminal fragment to the lipid A region of lipopolysaccharide. *Infect Immun.* 1992;60(11):4754-61.
79. Mannion BA, Weiss J, Elsbach P. Separation of sublethal and lethal effects of the bactericidal/permeability increasing protein on *Escherichia coli*. *J Clin Invest.* 1990;85(3):853-60.
80. Weiss J, Elsbach P, Shu C, Castillo J, Grinna L, Horwitz A, et al. Human bactericidal/permeability-increasing protein and a recombinant NH<sub>2</sub>-terminal fragment cause killing of serum-resistant gram-negative bacteria in whole blood and inhibit tumor necrosis factor release induced by the bacteria. *The Journal of clinical investigation.* 1992;90(3):1122-30.
81. Levy O, Ooi CE, Elsbach P, Doerfler ME, Lehrer RI, Weiss J. Antibacterial proteins of granulocytes differ in interaction with endotoxin. Comparison of bactericidal/permeability-increasing protein, p15s, and defensins. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950).* 1995;154(10):5403-10.
82. Elsbach P, Weiss J, Levy O. Integration of antimicrobial host defenses: role of the bactericidal/permeability-increasing protein. *Trends Microbiol.* 1994;2(9):324-8.
83. Levy O, Ooi CE, Weiss J, Lehrer RI, Elsbach P. Individual and synergistic effects of rabbit granulocyte proteins on *Escherichia coli*. *J Clin Invest.* 1994;94(2):672-82.
84. Reichel PH, Seemann C, Csernok E, Schröder JM, Müller A, Gross WL, et al. Bactericidal/permeability-increasing protein is expressed by human dermal fibroblasts and upregulated by interleukin 4. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003;10(3):473-5.
85. Canny G, Levy O, Furuta GT, Narravula-Alipati S, Sisson RB, Serhan CN, et al. Lipid mediator-induced expression of bactericidal/ permeability-increasing protein (BPI) in human mucosal epithelia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(6):3902-7.
86. Paulsen FP, Pufe T, Schaudig U, Held-Feindt J, Lehmann J, Schröder JM, et al. Detection of natural peptide antibiotics in human nasolacrimal ducts. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42(10):2157-63.
87. Canny GO, Trifonova RT, Kindelberger DW, Colgan SP, Fichorova RN. Expression and function of bactericidal/permeability-increasing protein in human genital tract epithelial cells. *J Infect Dis.* 2006;194(4):498-502.

88. Canny G, Cario E, Lennartsson A, Gullberg U, Brennan C, Levy O, et al. Functional and biochemical characterization of epithelial bactericidal/permeability-increasing protein. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006;290(3):G557-67.
89. Balakrishnan A, Marathe SA, Joglekar M, Chakravortty D. Bactericidal/permeability increasing protein: a multifaceted protein with functions beyond LPS neutralization. *Innate immunity*. 2013;19(4):339-47.
90. Bartold PM, Narayanan AS. Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontology 2000*. 2006;40(1):29-49.
91. Payne WA, Page RC, Ogilvie AL, Hall WB. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. *J Periodontal Res*. 1975;10(2):51-64.
92. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*. 1976;34(3):235-49.
93. Lindhe J, Rylander H. Experimental gingivitis in young dogs. *Scand J Dent Res*. 1975;83(6):314-26.
94. Seymour GJ, Gemmell E, Walsh LJ, Powell RN. Immunohistological analysis of experimental gingivitis in humans. *Clinical and experimental immunology*. 1988;71(1):132-7.
95. Seymour GJ, Powell RN, Aitken JF. Experimental gingivitis in humans. A clinical and histologic investigation. *Journal of periodontology*. 1983;54(9):522-8.
96. Kowashi Y, Jaccard F, Cimasoni G. Sulcular polymorphonuclear leucocytes and gingival exudate during experimental gingivitis in man. *J Periodontal Res*. 1980;15(2):151-8.
97. Allison JP, Lanier LL. Structure, function, and serology of the T-cell antigen receptor complex. *Annu Rev Immunol*. 1987;5:503-40.
98. Romagnani S. Human TH1 and TH2 subsets: doubt no more. *Immunol Today*. 1991;12(8):256-7.
99. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol*. 1989;7:145-73.
100. Cutler CW, Jotwani R, Pulendran B. Dendritic cells: immune saviors or Achilles' heel? *Infect Immun*. 2001;69(8):4703-8.
101. Teng YT. Protective and destructive immunity in the periodontium: Part 2--T-cell-mediated immunity in the periodontium. *J Dent Res*. 2006;85(3):209-19.

102. Berglundh T, Donati M, Zitzmann N. B cells in periodontitis: friends or enemies? *Periodontol 2000*. 2007;45:51-66.
103. Haapasalmi K, Makela M, Oksala O, Heino J, Yamada KM, Uitto VJ, et al. Expression of epithelial adhesion proteins and integrins in chronic inflammation. *Am J Pathol*. 1995;147(1):193-206.
104. Van Dyke TE, Lester MA, Shapira L. The Role of the Host Response in Periodontal Disease Progression: Implications for Future Treatment Strategies. *Journal of periodontology*. 1993;64 Suppl 8S:792-806.
105. Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis*. 2004;10(6):311-8.
106. Brew K, Dinakarandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1477(1-2):267-83.
107. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res*. 2003;92(8):827-39.
108. McCawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: they're not just for matrix anymore! *Curr Opin Cell Biol*. 2001;13(5):534-40.
109. Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*. 2003;31:77-104.
110. Lee W, Aitken S, Sodek J, McCulloch CA. Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *J Periodontal Res*. 1995;30(1):23-33.
111. Ingman T, Tervahartiala T, Ding Y, Tschesche H, Haerian A, Kinane DF, et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 1996;23(12):1127-32.
112. Abe M, Kawamoto K, Okamoto H, Horiuchi N. Induction of collagenase-2 (matrix metalloproteinase-8) gene expression by interleukin-1beta in human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res*. 2001;36(3):153-9.
113. Mäkelä M, Larjava H, Pirilä E, Maisi P, Salo T, Sorsa T, et al. Matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A) is related to migration of keratinocytes. *Exp Cell Res*. 1999;251(1):67-78.
114. Bendtzen K. Cytokines and natural regulators of cytokines. *Immunol Lett*. 1994;43(1-2):111-23.
115. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*. 2000;118(2):503-8.

116. Preshaw PM. Host response modulation in periodontics. *Periodontol* 2000. 2008;48:92-110.
117. Bendtzen K. Immune hormones (cytokines); pathogenic role in autoimmune rheumatic and endocrine diseases. *Autoimmunity*. 1989;2(2):177-89.
118. Bernard C, Tedgui A. Cytokine network and the vessel wall. Insights into septic shock pathogenesis. *Eur Cytokine Netw*. 1992;3(1):19-33.
119. Pan W, Wang Q, Chen Q. The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *Int J Oral Sci*. 2019;11(3):30.
120. Madureira DF, Lucas De Abreu Lima I, Costa GC, Lages EMB, Martins CC, Aparecida Da Silva T. Tumor Necrosis Factor-alpha in Gingival Crevicular Fluid as a Diagnostic Marker for Periodontal Diseases: A Systematic Review. *J Evid Based Dent Pract*. 2018;18(4):315-31.
121. Górska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madaliński K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2003;30(12):1046-52.
122. Whicher JT, Evans SW. Cytokines in disease. *Clin Chem*. 1990;36(7):1269-81.
123. Trinchieri G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*. 2003;3(2):133-46.
124. Stadler AF, Angst PD, Arce RM, Gomes SC, Oppermann RV, Susin C. Gingival crevicular fluid levels of cytokines/chemokines in chronic periodontitis: a meta-analysis. *Journal of clinical periodontology*. 2016;43(9):727-45.
125. Gowen M, Mundy GR. Actions of recombinant interleukin 1, interleukin 2, and interferon-gamma on bone resorption in vitro. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1986;136(7):2478-82.
126. Horwood NJ, Elliott J, Martin TJ, Gillespie MT. IL-12 alone and in synergy with IL-18 inhibits osteoclast formation in vitro. *J Immunol*. 2001;166(8):4915-21.
127. de Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, de Vries JE. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med*. 1991;174(5):1209-20.
128. Coomes SM, Kannan Y, Pelly VS, Entwistle LJ, Guidi R, Perez-Lloret J, et al. CD4(+) Th2 cells are directly regulated by IL-10 during allergic airway inflammation. *Mucosal Immunol*. 2017;10(1):150-61.

129. Chaudhry A, Samstein RM, Treuting P, Liang Y, Pils MC, Heinrich JM, et al. Interleukin-10 signaling in regulatory T cells is required for suppression of Th17 cell-mediated inflammation. *Immunity*. 2011;34(4):566-78.
130. Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol*. 1991;147(11):3815-22.
131. Fiorentino DF, Zlotnik A, Vieira P, Mosmann TR, Howard M, Moore KW, et al. IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *J Immunol*. 1991;146(10):3444-51.
132. Murai M, Turovskaya O, Kim G, Madan R, Karp CL, Cheroutre H, et al. Interleukin 10 acts on regulatory T cells to maintain expression of the transcription factor Foxp3 and suppressive function in mice with colitis. *Nat Immunol*. 2009;10(11):1178-84.
133. Park-Min KH, Ji JD, Antoniv T, Reid AC, Silver RB, Humphrey MB, et al. IL-10 suppresses calcium-mediated costimulation of receptor activator NF-kappa B signaling during human osteoclast differentiation by inhibiting TREM-2 expression. *J Immunol*. 2009;183(4):2444-55.
134. Andrukhov O, Ulm C, Reischl H, Nguyen PQ, Matejka M, Rausch-Fan X. Serum cytokine levels in periodontitis patients in relation to the bacterial load. *Journal of periodontology*. 2011;82(6):885-92.
135. Ebersole JL, Kirakodu S, Novak MJ, Stromberg AJ, Shen S, Orraca L, et al. Cytokine gene expression profiles during initiation, progression and resolution of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2014;41(9):853-61.
136. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2014;64(1):57-80.
137. Zhu J, Guo B, Fu M, Guo W, Yuan Y, Yuan H, et al. Interleukin-6-174G/C Polymorphism Contributes to Periodontitis Susceptibility: An Updated Meta-Analysis of 21 Case-Control Studies. *Dis Markers*. 2016;2016:9612421.
138. Taylor JJ. Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000*. 2010;54(1):160-94.
139. Dinarello CA. The IL-1 family and inflammatory diseases. *Clin Exp Rheumatol*. 2002;20(5 Suppl 27):S1-13.
140. Salvi GE, Lang NP. Host response modulation in the management of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 2005;32 Suppl 6:108-29.

141. Barksby HE, Lea SR, Preshaw PM, Taylor JJ. The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. *Clin Exp Immunol.* 2007;149(2):217-25.
142. Yazdi AS, Ghoreschi K. The Interleukin-1 Family. *Adv Exp Med Biol.* 2016;941:21-9.
143. Cheng R, Wu Z, Li M, Shao M, Hu T. Interleukin-1 $\beta$  is a potential therapeutic target for periodontitis: a narrative review. *International journal of oral science.* 2020;12(1):2.
144. Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000.* 2010;52(1):163-206.
145. Huynh NC, Everts V, Pavasant P, Ampornaramveth RS. Interleukin-1 $\beta$  induces human cementoblasts to support osteoclastogenesis. *Int J Oral Sci.* 2017;9(12):e5.
146. Kusano K, Miyaura C, Inada M, Tamura T, Ito A, Nagase H, et al. Regulation of matrix metalloproteinases (MMP-2, -3, -9, and -13) by interleukin-1 and interleukin-6 in mouse calvaria: association of MMP induction with bone resorption. *Endocrinology.* 1998;139(3):1338-45.
147. Lorenzo J, Horowitz M, Choi Y. Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. *Endocr Rev.* 2008;29(4):403-40.
148. Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol.* 2012;39(3):239-48.
149. Ruscitti P, Cipriani P, Carubbi F, Liakouli V, Zazzeroni F, Di Benedetto P, et al. The role of IL-1 $\beta$  in the bone loss during rheumatic diseases. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:782382.
150. Walsh MC, Choi Y. Biology of the RANKL-RANK-OPG System in Immunity, Bone, and Beyond. *Front Immunol.* 2014;5:511.
151. Corrado A, Neve A, Maruotti N, Cantatore FP. Bone effects of biologic drugs in rheumatoid arthritis. *Clin Dev Immunol.* 2013;2013:945945.
152. Silness J, Loe H. PERIODONTAL DISEASE IN PREGNANCY. II. CORRELATION BETWEEN ORAL HYGIENE AND PERIODONTAL CONDITION. *Acta odontologica Scandinavica.* 1964;22:121-35.
153. Loe H, Silness J. PERIODONTAL DISEASE IN PREGNANCY. I. PREVALENCE AND SEVERITY. *Acta odontologica Scandinavica.* 1963;21:533-51.

154. Joss A, Adler R, Lang NP. Bleeding on probing. A parameter for monitoring periodontal conditions in clinical practice. *Journal of clinical periodontology*. 1994;21(6):402-8.
155. Chapple IL, Landini G, Griffiths GS, Patel NC, Ward RS. Calibration of the Periotron 8000 and 6000 by polynomial regression. *Journal of periodontal research*. 1999;34(2):79-86.
156. Chen CZ, Ou CY, Wang RH, Lee CH, Lin CC, Chang HY, et al. The role of bactericidal/permeability-increasing protein in men with chronic obstructive pulmonary disease. *Copd*. 2012;9(2):197-202.
157. Bartold PM, Van Dyke TE. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontology 2000*. 2013;62(1):203-17.
158. Ebersole JL, Al-Sabbagh M, Gonzalez OA, Dawson DR, 3rd. Ageing effects on humoral immune responses in chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2018;45(6):680-92.
159. Borrell LN, Talih M. Examining periodontal disease disparities among U.S. adults 20 years of age and older: NHANES III (1988-1994) and NHANES 1999-2004. *Public health reports (Washington, DC : 1974)*. 2012;127(5):497-506.
160. Bouchard P, Boutouyrie P, Mattout C, Bourgeois D. Risk assessment for severe clinical attachment loss in an adult population. *Journal of periodontology*. 2006;77(3):479-89.
161. Eke PI, Wei L, Thornton-Evans GO, Borrell LN, Borgnakke WS, Dye B, et al. Risk Indicators for Periodontitis in US Adults: NHANES 2009 to 2012. *Journal of periodontology*. 2016;87(10):1174-85.
162. Shiau HJ, Reynolds MA. Sex differences in destructive periodontal disease: a systematic review. *Journal of periodontology*. 2010;81(10):1379-89.
163. Van der Velden U, Abbas F, Armand S, Loos BG, Timmerman MF, Van der Weijden GA, et al. Java project on periodontal diseases. The natural development of periodontitis: risk factors, risk predictors and risk determinants. *Journal of clinical periodontology*. 2006;33(8):540-8.
164. Khader YS, Rice JC, Lefante JJ. Factors associated with periodontal diseases in a dental teaching clinic population in northern Jordan. *Journal of periodontology*. 2003;74(11):1610-7.

165. Susin C, Haas AN, Valle PM, Oppermann RV, Albandar JM. Prevalence and risk indicators for chronic periodontitis in adolescents and young adults in south Brazil. *Journal of clinical periodontology*. 2011;38(4):326-33.
166. Stabholz A, Soskolne WA, Shapira L. Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontology 2000*. 2010;53:138-53.
167. Bergström J. Periodontitis and smoking: an evidence-based appraisal. *The journal of evidence-based dental practice*. 2006;6(1):33-41.
168. Ryder MI. The influence of smoking on host responses in periodontal infections. *Periodontology 2000*. 2007;43:267-77.
169. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000*. 1997;14:9-11.
170. Milanezi de Almeida J, Bosco AF, Bonfante S, Theodoro LH, Nagata MJ, Garcia VG. Nicotine-induced damage affects gingival fibroblasts in the gingival tissue of rats. *Journal of periodontology*. 2011;82(8):1206-11.
171. Buduneli N, Biyikoğlu B, Sherrabeh S, Lappin DF. Saliva concentrations of RANKL and osteoprotegerin in smoker versus non-smoker chronic periodontitis patients. *Journal of clinical periodontology*. 2008;35(10):846-52.
172. Kinane DF. Periodontitis modified by systemic factors. *Annals of periodontology*. 1999;4(1):54-64.
173. Wilton JM, Griffiths GS, Curtis MA, Maiden MF, Gillett IR, Wilson DT, et al. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases. Systemic predisposition and markers of general health. *Journal of clinical periodontology*. 1988;15(6):339-46.
174. Page RC, Beck JD. Risk assessment for periodontal diseases. *International dental journal*. 1997;47(2):61-87.
175. Sima C, Hourida K, Van Dyke TE, Gyurko R. Type 1 diabetes predisposes to enhanced gingival leukocyte margination and macromolecule extravasation in vivo. *Journal of periodontal research*. 2010;45(6):748-56.
176. Martínez-Maestre M, González-Cejudo C, Machuca G, Torrejón R, Castelo-Branco C. Periodontitis and osteoporosis: a systematic review. *Climacteric : the journal of the International Menopause Society*. 2010;13(6):523-9.

177. Vittek J, Rappaport SC, Gordon GG, Munnangi PR, Southren AL. Concentration of circulating hormones and metabolism of androgens by human gingiva. *Journal of periodontology*. 1979;50(5):254-64.
178. Ojanotko A, Harri MP. Progesterone metabolism by rat oral mucosa. II. The effect of pregnancy. *Journal of periodontal research*. 1982;17(2):196-201.
179. Sakellari D, Goodson JM, Kolokotronis A, Konstantinidis A. Concentration of 3 tetracyclines in plasma, gingival crevice fluid and saliva. *Journal of clinical periodontology*. 2000;27(1):53-60.
180. Cetinkaya B, Guzeldemir E, Ogus E, Bulut S. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and patients with chronic periodontitis. *Journal of periodontology*. 2013;84(1):84-93.
181. Hou LT, Liu CM, Rossomando EF. Crevicular interleukin-1 beta in moderate and severe periodontitis patients and the effect of phase I periodontal treatment. *Journal of clinical periodontology*. 1995;22(2):162-7.
182. Sezen D, Hatipoğlu M, Üstün K. Evaluation of the clinical and biochemical efficacy of erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet (Er,Cr:YSGG) laser treatment in periodontitis. *Lasers in medical science*. 2020;35(7):1567-75.
183. Page RC, Eke PI. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *Journal of periodontology*. 2007;78(7 Suppl):1387-99.
184. Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *Journal of periodontology*. 1999;70(1):13-29.
185. Kingman A, Albandar JM. Methodological aspects of epidemiological studies of periodontal diseases. *Periodontology 2000*. 2002;29:11-30.
186. Ertugrul AS, Sahin H, Dikilitas A, Alpaslan N, Bozoglan A. Comparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor-alpha in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis. *Journal of periodontal research*. 2013;48(1):44-51.
187. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2001;69(3):89-95.
188. Buduneli N, Kinane DF. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2011;38 Suppl 11:85-105.

189. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontology* 2000. 2003;31:32-42.
190. Brill N. Influence of Capillary Permeability on Flow of Tissue Fluid Into Gingival Pockets. *Acta odontologica Scandinavica*. 1959;17(1):23-33.
191. Loe H, Holm-Pedersen P. ABSENCE AND PRESENCE OF FLUID FROM NORMAL AND INFLAMED GINGIVAE. *Periodontics*. 1965;3:171-7.
192. Pashley DH. A mechanistic analysis of gingival fluid production. *Journal of periodontal research*. 1976;11(2):121-34.
193. Nazar Majeed Z, Philip K, Alabsi AM, Pushparajan S, Swaminathan D. Identification of Gingival Crevicular Fluid Sampling, Analytical Methods, and Oral Biomarkers for the Diagnosis and Monitoring of Periodontal Diseases: A Systematic Review. *Disease markers*. 2016;2016:1804727.
194. Mühlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding--a leading symptom in initial gingivitis. *Helvetica odontologica acta*. 1971;15(2):107-13.
195. Toyman U, Tüter G, Kurtiş B, Kıvrak E, Bozkurt Ş, Yücel AA, et al. Evaluation of gingival crevicular fluid levels of tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor 2, matrix metalloproteinase-3 and interleukin 1- $\beta$  in patients with different periodontal diseases. *Journal of periodontal research*. 2015;50(1):44-51.
196. Emingil G, Cinarcik S, Baylas H, Hüseyinov A. Levels of platelet-activating factor in gingival crevicular fluid and gingival tissue in specific periodontal diseases. *Journal of periodontology*. 2001;72(8):1032-7.
197. Becerik S, Öztürk V, Atmaca H, Atilla G, Emingil G. Gingival crevicular fluid and plasma acute-phase cytokine levels in different periodontal diseases. *Journal of periodontology*. 2012;83(10):1304-13.
198. Kurşunlu SF, Oztürk V, Han B, Atmaca H, Emingil G. Gingival crevicular fluid interleukin-36 $\beta$  (-1F8), interleukin-36 $\gamma$  (-1F9) and interleukin-33 (-1F11) levels in different periodontal disease. *Archives of oral biology*. 2015;60(1):77-83.
199. Becerik S, Afacan B, Oztürk V, Atmaca H, Emingil G. Gingival crevicular fluid calprotectin, osteocalcin and cross-linked N-terminal telopeptid levels in health and different periodontal diseases. *Disease markers*. 2011;31(6):343-52.
200. Ay ZY, Yılmaz G, Ozdem M, Koçak H, Sütçü R, Uskun E, et al. The gingival crevicular fluid levels of interleukin-11 and interleukin-17 in patients with aggressive periodontitis. *Journal of periodontology*. 2012;83(11):1425-31.

201. Pradeep AR, Kathariya R, Raghavendra NM, Sharma A. Levels of pentraxin-3 in gingival crevicular fluid and plasma in periodontal health and disease. *Journal of periodontology*. 2011;82(5):734-41.
202. Ozkavaf A, Aras H, Huri CB, Mottaghian-Dini F, Tözüm TF, Etikan I, et al. Relationship between the quantity of gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. *Journal of oral science*. 2000;42(4):231-8.
203. Smith QT, Au GS, Freese PL, Osborn JB, Stoltenberg JL. Five parameters of gingival crevicular fluid from eight surfaces in periodontal health and disease. *Journal of periodontal research*. 1992;27(5):466-75.
204. Griffiths GS, Sterne JA, Wilton JM, Eaton KA, Johnson NW. Associations between volume and flow rate of gingival crevicular fluid and clinical assessments of gingival inflammation in a population of British male adolescents. *Journal of clinical periodontology*. 1992;19(7):464-70.
205. Hancock EB, Cray RJ, O'Leary TJ. The relationship between gingival crevicular fluid and gingival inflammation. A clinical and histologic study. *Journal of periodontology*. 1979;50(1):13-9.
206. Tsai CC, Ho YP, Chen CC. Levels of interleukin-1 beta and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *Journal of periodontology*. 1995;66(10):852-9.
207. Wassall RR, Preshaw PM. Clinical and technical considerations in the analysis of gingival crevicular fluid. *Periodontology 2000*. 2016;70(1):65-79.
208. Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*. 2015;72:4-15.
209. Shah K, Maghsoudlou P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): the basics. *British journal of hospital medicine (London, England : 2005)*. 2016;77(7):C98-101.
210. Yavuzylmaz E, Yamalik N, Bulut S, Ozen S, Ersoy F, Saatçi U. The gingival crevicular fluid interleukin-1 beta and tumour necrosis factor-alpha levels in patients with rapidly progressive periodontitis. *Australian dental journal*. 1995;40(1):46-9.
211. Horowitz MC. Cytokines and estrogen in bone: anti-osteoporotic effects. *Science (New York, NY)*. 1993;260(5108):626-7.
212. Matsuki Y, Yamamoto T, Hara K. Detection of inflammatory cytokine messenger RNA (mRNA)-expressing cells in human inflamed gingiva by combined in situ hybridization and immunohistochemistry. *Immunology*. 1992;76(1):42-7.

213. Mizel SB. Interleukin 1 and T cell activation. *Immunological reviews*. 1982;63:51-72.
214. Chiplunkar S, Langhorne J, Kaufmann SH. Stimulation of B cell growth and differentiation by murine recombinant interleukin 1. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1986;137(12):3748-52.
215. Sauder DN, Mounessa NL, Katz SI, Dinarello CA, Gallin JI. Chemotactic cytokines: the role of leukocytic pyrogen and epidermal cell thymocyte-activating factor in neutrophil chemotaxis. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1984;132(2):828-32.
216. Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. 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. *Journal of periodontology*. 2000;71(10):1535-45.
217. Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral microbiology and immunology*. 2006;21(4):256-60.
218. Preiss DS, Meyle J. Interleukin-1 beta concentration of gingival crevicular fluid. *Journal of periodontology*. 1994;65(5):423-8.
219. Zhong Y, Slade GD, Beck JD, Offenbacher S. Gingival crevicular fluid interleukin-1beta, prostaglandin E2 and periodontal status in a community population. *Journal of clinical periodontology*. 2007;34(4):285-93.
220. Fitzsimmons TR, Sanders AE, Slade GD, Bartold PM. Biomarkers of periodontal inflammation in the Australian adult population. *Australian dental journal*. 2009;54(2):115-22.
221. Preiss DS, Meyle J. Interleukin-1 $\beta$  Concentration of Gingival Crevicular Fluid. *Journal of periodontology*. 1994;65(5):423-8.
222. Ishihara Y, Nishihara T, Kuroyanagi T, Shirozu N, Yamagishi E, Ohguchi M, et al. Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. *Journal of periodontal research*. 1997;32(6):524-9.
223. Giannopoulou C, Kamma JJ, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *Journal of clinical periodontology*. 2003;30(2):145-53.

224. Gilowski L, Wiench R, Płocica I, Krzemiński TF. Amount of interleukin-1 $\beta$  and interleukin-1 receptor antagonist in periodontitis and healthy patients. *Archives of oral biology*. 2014;59(7):729-34.
225. Levy O, Canny G, Serhan CN, Colgan SP. Expression of BPI (bactericidal/permeability-increasing protein) in human mucosal epithelia. *Biochemical Society transactions*. 2003;31(Pt 4):795-800.
226. Calafat J, Janssen H, Tool A, Dentener MA, Knol EF, Rosenberg HF, et al. The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) is present in specific granules of human eosinophils. *Blood*. 1998;91(12):4770-5.
227. Weiss J, Elsbach P, Olsson I, Odeberg H. Purification and characterization of a potent bactericidal and membrane active protein from the granules of human polymorphonuclear leukocytes. *The Journal of biological chemistry*. 1978;253(8):2664-72.
228. Elsbach P, Weiss J. The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI), a potent element in host-defense against gram-negative bacteria and lipopolysaccharide. *Immunobiology*. 1993;187(3-5):417-29.
229. Marra MN, Wilde CG, Griffith JE, Snable JL, Scott RW. Bactericidal/permeability-increasing protein has endotoxin-neutralizing activity. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1990;144(2):662-6.
230. Ciornei CD, Egesten A, Engström M, Törnebrandt K, Bodelsson M. Bactericidal/permeability-increasing protein inhibits endotoxin-induced vascular nitric oxide synthesis. *Acta anaesthesiologica Scandinavica*. 2002;46(9):1111-8.
231. Pouliot M, Clish CB, Petasis NA, Van Dyke TE, Serhan CN. Lipoxin A(4) analogues inhibit leukocyte recruitment to *Porphyromonas gingivalis*: a role for cyclooxygenase-2 and lipoxins in periodontal disease. *Biochemistry*. 2000;39(16):4761-8.
232. Levin M, Quint PA, Goldstein B, Barton P, Bradley JS, Shemie SD, et al. Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21) as adjunctive treatment for children with severe meningococcal sepsis: a randomised trial. rBPI21 Meningococcal Sepsis Study Group. *Lancet (London, England)*. 2000;356(9234):961-7.
233. Xingyuan C, Chen Q. Serum BPI as a novel biomarker in asthma. *Allergy, asthma, and clinical immunology : official journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology*. 2020;16:50.

234. Can G, Akın H, Özdemir FT, Can H, Yılmaz B, Eren F, et al. Bactericidal permeability increasing protein gene polymorphism is associated with inflammatory bowel diseases in the Turkish population. *Saudi journal of gastroenterology : official journal of the Saudi Gastroenterology Association*. 2015;21(4):239-44.
235. Guerra-Ruiz A, Casafont F, Cobo M, Terán A, de-la-Peña J, Estebanez A, et al. Increased bactericidal/permeability increasing protein in patients with cirrhosis. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2010;30(1):94-101.
236. Nell MJ, Koerten HK, Grote JJ. Bactericidal/permeability-increasing protein prevents mucosal damage in an experimental rat model of chronic otitis media with effusion. *Infection and immunity*. 2000;68(5):2992-4.
237. Levy O. Therapeutic potential of the bactericidal/permeability-increasing protein. *Expert opinion on investigational drugs*. 2002;11(2):159-67.

## EK-1 Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 70904504/ 584  
Konu :

31.12/2018

Sayın  
Doç.Dr.Kemal ÜSTÜN  
Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Öğretim Üyesi

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz, "Periodontal Açından Sağlıklı ve Periodontal Hastalığa Sahip Bireylerde Diş Eti Oluğu Sıvısındaki BPI(Bakterisidal Permeability Increasing Protein), İnterlökin-1Beta (İl-1b) Düzeylerinin Değerlendirilmesi." adlı çalışmaya ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Arda GİL  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

Eki: Etik Kurul Kararı

---

Adres : Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 1. Kat ANTALYA  
Tel :  
Faks :  
e-posta :

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU  
2018

KARAR

<b>ETİK KURUL BİLGİLERİ</b>	ETİK KURULUN ADI	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Morfoloji Binası A Blok 1. Kat No: A1-05 Kampüs /ANTALYA
	TELEFON	0 (312) 220 20 54
	FAKS	0 (312) 220 20 55
	E-POSTA	etik@akdeniz.edu.tr
	ETİK KURUL KODU	2012-KAEK-20
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Kemal ÜSTÜN	
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Periodontal Açından Sağlıklı ve Periodontal Hastalığa Sahip Bireylerde Diş Eti Oluğu Sıvısındaki BPI(Bakterisidal Permeability Increasing Protein), İnterlökin-1Beta (İl-1b) Düzeylerinin Değerlendirilmesi	
DESTEKLEYİCİ	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi	
<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	Karar No: 901	Tarih: 26.12.2018
	Yukarıda bilgileri verilen çalışmanın yapılmasında bilimsel ve etik açısından sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.	

Prof.Dr. Arda KARĞIL  
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Dr.Öğr.Üyesi Levent ÖZGÖNÜL  
Başkan Yardımcısı

Prof.Dr.Murat CANPOLAT  
Üye

Prof.Dr.Đilara İNAN  
Üye

Prof.Dr.Veli YAZISIZ  
Üye

Prof.Dr.Bilge KARSLI  
Üye (Izinli)

Prof.Dr.Öğr.Üyesi BURŞUN  
Üye

Doç.Dr.Gülşüm Özge BAYSAL  
Üye (Izinli)

Doç.Dr.Dijle KİPMEN KORGUN  
Üye

Doç.Dr.Banu NUR  
Üye

Dr.Öğr.Üyesi Mehtap TÜRKAY  
Üye (Izinli)

Dr.Önal HÜLÜR  
Üye (Izinli)

Turgut ALTUN  
Üye

Av.Mustafa AÇIKEL  
Üye

## EK-2 Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

6



### ASGARI BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Katılımcı / Gönüllünün Protokol Numarası:

1. Araştırmayla İlgili Bilgiler:

a. Araştırmanın Adı:

Periodontal açıdan sağlıklı ve periodontal hastalığa sahip bireylerde diş eti oluğu sıvısındaki BPI (Bakterisidal geçirgenlik artırıcı protein), İnterlökin-1Beta (İL-1b) düzeylerinin değerlendirilmesi.

b. Araştırmanın İçeriği:

Çalışmaya katılan hastalara, kliniğimizde uygulanan rutin muayene yöntemleri uygulanacaktır. Buna ek olarak diş eti cebine teşhis amaçlı kağıtlar koyulup 30 saniye bekletilecektir. Bunlar daha laboratuvar ortamında değerlendirilecektir.

c. Araştırmanın Amacı:

Bakterisidal Geçirgenlik Arttırıcı Protein ve İnterlökin-1beta'nın periodontal hastalıkların teşhisi ve tedavisi için bir öneme sahip olabileceğinin değerlendirilmesi.

d. Araştırmanın Nedeni:

( ) Bilimsel araştırma

(X) Tez çalışması

e. Araştırmanın Öngörülen Süresi:

18 AY

f. Araştırmaya Katılması Beklenen Katılımcı/Gönüllü Sayısı:

45 kişi çalışma grubu, 45 kişi kontrol grubu

g. Araştırmada İzlenecek Deneysel İşlemler:

Araştırmada herhangi bir deneysel method ya da işlem kullanılmayacaktır.

2. Gönüllünün/Katılımcının Uygulama Sırasında Karşılaşabileceği Riskler ve Rahatsızlıklar:

Yukarıda açıklanan araştırma sırasında uygulanacak olan işlemlerin bana aşağıda belirtilen riskleri ve rahatsızlıkları getirebileceğinin bilincindeyim:

Araştırma hasta ile ilgili herhangi bir risk taşımamaktadır. Araştırmada hastalık teşhisi için Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Kliniği'ne gelen her hastaya yapılan rutin muayene işlemleri uygulanacaktır. Buna ek olarak diş eti oluğuna kağıt stripler yerleştirilecek, 30 saniye boyunca tutulacak ve bu kağıt stripler Eppendorf tüpüne konulacaktır. Mevcut araştırma hastaya yönelik teşhis yöntemleri dışında başka bir tedavi ya da işlem içermemektedir.

3. Gönüllüler/Katılımcılar İçin Araştırmadan Beklenen Yarar:

Gönüllüler, hastalığın etyopatogenezinin aydınlatılmasına katkıda bulunacaklardır. Hastalığın etiyolojisinin aydınlatılması yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlayabilir.



#### 4. Araştırma Konusundaki Soruların Cevaplandırılması:

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ile haklarım konusunda bilgi almak için aşağıda belirtilen kişiyle bağlantı kurmam yeterli olacaktır.

Adı- Soyadı: Kazım Korkmaz      Telefon: 0

#### 5. Zararların Karşlanması:

Bu çalışmaya katıldığım için zarar göreceğim olursam, gerekli olan tıbbi bakımın sorumlu araştırmacı tarafından yerine getirileceği, uygulanan işleme bağlı olarak gelişebilecek her tür hasara (sakatlanma ve ölüm dahil) karşı güvencede olduğum, masraflarımın Kemal Üstün tarafından karşılanacağı bana bildirildi.

#### 6. Araştırma Giderleri:

Araştırma kapsamındaki bütün işlemler için benden ya da bağlı olduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

#### 7. Gönüllülük, Çalışmayı Reddetme ve Çalışmadan Çekilme Hakkı, Çalışmadan Çıkarılma:

- Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.
- Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.
- Sorumlu araştırmacıya haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.
- Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle ya da araştırma prosedürüne bağlı olarak onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.

#### 9. Gizlilik:

Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

#### 10. Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye / katılımcıya verilmesi gereken bilgileri gösteren Aydınlatılmış Onam Formu adlı metni kendi anadilimde okudum ya da bana okunmasını sağladım. Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı. Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım. Çalışmaya katılmadığım ya da katıldıktan sonra çekildiğim durumda, hiçbir yasal hakkımdan vazgeçmiş olmayacağım. Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.



6

Gönüllünün / katılımcının Adı- Soyadı:

Yaş ve Cinsiyeti:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....  
.....

Tarih:

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için;

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....  
.....

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının Adı- Soyadı: Kazım Korkmaz

İmzası:

Tarih:

Onam alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı- Soyadı:

İmzası:

Görevi:

Tarih:

### EK-3 Hasta Anamnez ve Periodontal İndeks Formu

Ad – Soyad:

Sigara:

Yaş:

Periodontal tedavi:

Telefon:

Fırçalama:

Teşhis:

Arayüz temizliği:

Sistemik hastalık:

Tedavi süresi:

Aile hikayesi:

ÜST	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
PI														
CD														
GI														
DÇ														

ALT	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
PI														
CD														
GI														
DÇ														

**EK-4. Periotron skorlarının mikrolitre değerleri**

Periotron	Mikrolitre	Periotron	Mikrolitre	Periotron	Mikrolitre	Periotron	Mikrolitre
1	0,01	50	0,16	99	0,38	148	0,73
2	0,01	51	0,17	100	0,38	149	0,74
3	0,01	52	0,17	101	0,39	150	0,75-0,76
4	0,02	53	0,18	102	0,39	151	0,77
5	0,02	54	0,18	103	0,4	152	0,78
6	0,02	55	0,18	104	0,4	153	0,79
7	0,03	56	0,19	105	0,41	154	0,8
8	0,03	57	0,19	106	0,41	155	0,82
9	0,03	58	0,19	107	0,42	156	0,83
10	0,03	59	0,2	108	0,42	157	0,84
11	0,04	60	0,2	109	0,43	158	0,85-0,86
12	0,04	61	0,21	110	0,44	159	0,87
13	0,04	62	0,21	111	0,44	160	0,88-0,89
14	0,05	63	0,21	112	0,45	161	0,9
15	0,05	64	0,22	113	0,45	162	0,91-0,92
16	0,05	65	0,22	114	0,46	163	0,93
17	0,06	66	0,23	115	0,47	164	0,94-0,95
18	0,06	67	0,23	116	0,47	165	0,96
19	0,06	68	0,23	117	0,48	166	0,97-0,98
20	0,06	69	0,24	118	0,49	167	0,99-1
21	0,07	70	0,24	119	0,49	168	1,01-1,02
22	0,07	71	0,25	120	0,5	169	1,03
23	0,07	72	0,25	121	0,51	170	1,04-1,05
24	0,08	73	0,25	122	0,51	171	1,06-1,07
25	0,08	74	0,26	123	0,52	172	1,08-1,09
26	0,08	75	0,26	124	0,53	173	1,1-1,11
27	0,09	76	0,27	125	0,53	174	1,12
28	0,09	77	0,27	126	0,54	175	1,13-1,14
29	0,09	78	0,28	127	0,55	176	1,15-1,16
30	0,1	79	0,28	128	0,55	177	1,17-1,18
31	0,1	80	0,28	129	0,56	178	1,19-1,2
32	0,1	81	0,29	130	0,57	179	1,21-1,22
33	0,11	82	0,29	131	0,58	180	1,23
34	0,11	83	0,3	132	0,59	181	1,24-1,25
35	0,11	84	0,3	133	0,59	182	1,26-1,27
36	0,12	85	0,31	134	0,6	183	1,28-1,29
37	0,12	86	0,31	135	0,61	184	1,3
38	0,12	87	0,32	136	0,62	185	1,31-1,32
39	0,13	88	0,32	137	0,63	186	1,33
40	0,13	89	0,33	138	0,64	187	1,34-1,35
41	0,13	90	0,33	139	0,64	188	1,36-1,37
42	0,14	91	0,33	140	0,65	189	1,38
43	0,14	92	0,34	141	0,66	190	1,39
44	0,14	93	0,34	142	0,67	191	1,4-1,41
45	0,15	94	0,35	143	0,68	192	1,42
46	0,15	95	0,35	144	0,69	193	1,43-1,44
47	0,15	96	0,36	145	0,7	194	1,45
48	0,16	97	0,36	146	0,71	195	1,46
49	0,16	98	0,37	147	0,72	196	1,47

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Kazım	<b>Uyruğu</b>	Yabancı Uyruklu
<b>Soyadı</b>	Korkmaz	<b>Tel no</b>	
<b>Doğum Tarihi</b>		<b>e-posta</b>	

### Eğitim Bilgileri

<b>Mezun Olduğu Kurum</b>		<b>Mezuniyet yılı</b>
<b>Lise</b>	Akasya Lisesi	<b>2004</b>
<b>Lisans/Yüksek Lisans</b>	Filibe Tıp Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	<b>2013</b>
<b>Doktora /Uzmanlık</b>	Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı	<b>2020</b>

### İş Deneyimi

<b>Görevi</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre (yıl-yıl)</b>
<b>Arş. Gör.</b>	Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı	<b>2017-2020</b>